

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA, GINECOLOGÍA, PEDIATRIA,
RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA

AREA DE PEDIATRIA

PROGRAMA DE DOCTORADO DE FISIOPATOLOGIA INFANTIL

1994-1996

**"INFLUENCIA DE LA INFECCION POR EL VIRUS
RESPIRATORIO SINCITIAL EN EL DESARROLLO
INMUNOLÓGICO EN NIÑOS DE 0 A 2 AÑOS DE
EDAD"**

Trabajo realizado para optar al grado de Doctor en Medicina

Presentado por Montserrat Garriga Badia

Dirigido por: Profesora M^a Anunciación Martín Mateos

Barcelona, Setiembre de 2003

Mi especial gratitud a la directora de esta tesis la profesora M.A. Martín Mateos, medico del servicio de Inmunología del Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona, por su apoyo personal e incondicional ayuda en la elaboración de esta tesis.

Al Staf del Servicio de Inmunología Dr. I. Sierra, Dra. A. M^a. Plaza, Dra. M. Giner, por su asesoramiento en mi iniciación a la inmunología.

A la secretaria del Servicio de Inmunología Sra. Carmina Riviere por su dinamismo, simpatía y ayuda en el seguimiento y control de los niños de este estudio.

A las Sras. Conchita Giménez y Maite De la Rosa, equipo de ATS del Servicio de Inmunología, por su colaboración y realización de las pruebas cutáneas en los niños de este estudio.

A la Dra. Inmaculada Ferrer adjunta del Departamento de bioquímica del Laboratorio por su predisposición a la colaboración con los nuevos trabajos y a su especial constancia en la búsqueda de la técnica más adecuada y precisa para la determinación de las interleucinas y moléculas de adhesión.

A todo el equipo de técnicos del laboratorio que han participado en las extracciones, procesamiento y conservación de las muestras de los niños del estudio.

Al Profesor Dr. J. Figueras Aloy por su constante ánimo para llevar a cabo este trabajo.

Al profesor Martín Ríos y a la Srta. Regina Muñoz por la elaboración del estudio estadístico, sin su ayuda no hubiera podido llegar a la obtención de los resultados y del cálculo estadístico

A los padres y niños tanto los afectos de bronquiolitis como a los sanos que colaboraron en el presente estudio, con el fin de aumentar los conocimientos de las bronquiolitis VRS+ y encontrar unos parámetros para prevenir la presencia posterior de asma.

Al staff del Servicio de Pediatría del Hospital General de Manresa y en especial al Dr José Luis Hernández por su ayuda en encontrar el tiempo necesario para la realización de este estudio.

Este proyecto se ha realizado gracias a la aportación económica obtenida con la ayuda concedida por el Hospital Sant Joan de Déu en la convocatoria Fin de Residencia, y por la beca de investigación de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología clínica.

DEDICATORIA

A Pedro, por su ayuda y paciencia

A mis hijos Albert, Ricard y Meritxell

A mis padres y hermana

INDICE DE MATERIAS

INDICE DE MATERIAS

I. – INTRODUCCIÓN		19	
1.1	BRONQUIOLITIS	20	7
1.1.1	DEFINICION DE BRONQUIOLITIS	20	
1.1.2	ETIOLOGIA	20	
1.1.3	EPIDEMIOLOGIA	21	
1.1.4	ANATOMIA PATOLÓGICA	23	
1.1.5	FISIOPATOLOGIA	23	
1.1.6	SINTOMATOLOGIA.	24	
	Escala Wood-Downes modificada por Ferrer	25	
1.1.7	DIAGNOSTICO	25	
1.1.8	RECIDIVAS	26	
1.1.9	TRATAMIENTO DE LA BRONQUIOLITIS	27	
1.1.10	PROFILAXIS DE LA BRONQUIOLITIS	27	
1.2	ASMA DEL LACTANTE	29	
1.2.1	DEFINICION DEL ASMA DEL LACTANTE	29	
1.2.2	EPIDEMIOLOGIA.	30	
	1.2.2.1 Historia natural del asma	30	
	1.2.2.2 Criterios de riesgo de asma	31	
	1.2.2.3 Factores predisponentes	31	
	1.2.2.4 Agentes etiológicos	31	
	1.2.2.5 Factores que contribuyen al desarrollo del asma	32	31
	1.2.2.6 Factores desencadenantes del asma	32	
1.2.3	PATOGENIA	33	
1.2.4	DIAGNOSTICO	34	
	1.2.4.1 Anamnesis	34	
	1.2.4.2 Exploración física	34	

1.2.5	TRATAMIENTO	36
	Abordaje escalonado del tratamiento del asma del lactante y niño pequeño (de edad igual o inferior a 5 años) con asma aguda o crónica.	
1.2.6	PREVENCION DEL ASMA	37
1.3	BRONQUIOLITIS Y ASMA	38
1.4	MOLECULAS DE ADHESIÓN:	42
1.4.1	Definición	42
1.4.2	Función de las moléculas de adhesión	42
1.4.3	Cascada de las moléculas de adhesión	43
1.4.4	Clasificación de las moléculas de adhesión	44
1.4.5	Moléculas de adhesión implicadas en el desarrollo de la inflamación bronquial en los pulmones de pacientes asmáticos.	47
II	- HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS	51
2.1	HIPÓTESIS DE TRABAJO	52
2.2	OBJETIVOS DEL TRABAJO	57
	Objetivo general	57
	Objetivos específicos	57
III	- MATERIAL Y MÉTODOS	58
3.1	POBLACION DE ESTUDIO	59
3.1.1.	NIÑOS CON BRONQUIOLITIS (Grupo A)	59
	3.1.1.a. Criterios de Inclusión	59
	3.1.1.b. Criterios de Exclusión	60
3.2	METODO	62
3.1.2.	NIÑOS SANOS (Grupo B)	62
	3.1.2.a. Criterios de inclusión.	62
	3.1.2.b. Criterios de exclusión.	64
3.2.1.	Seguimiento Clínico de los niños	64
3.2.2	METODOLOGÍA ANALITICA	65
3.2.2. a.	Pruebas "in vitro":	65
	1.- Estudio etiológico de la infección viral respiratoria (bronquiolitis) mediante inmunofluorescencia directa	65
	-VRS	
	-Adenovirus, Influenza A y B, Parainfluenza 3.	
	2.- Estudio de la inmunidad humoral y celular de los niños del estudio:	68
	- Hemograma: eosinofilia	68
	- Inmunoglobulina E	69
	- Inmunoglobulinas totales	71
	- Ig E específica	72
	- poblaciones linfocitarias:	72
	- Citoquinas: interferón γ e interleucina 4	73
	- Proteína catiónica eosinófila	73
	- Moléculas de adhesión	74
3.2.2. b	Pruebas "in vivo":	75
	1-Pruebas cutáneas por técnica de Prick	75
3.3.	TRANSFORMACIONES Y CÁLCULOS MATEMÁTICOS	75
3.3.1	CALENDARIO	75

IV. – RESULTADOS	80
1. NIÑOS CON BRONQUIOLITIS (Grupo A)	81
1.1 SEXO	81
1.2 EDAD DE INGRESO	81
1.3 ANTECEDENTES FAMILIARES DE ATOPIA	82
1.4 FACTORES AMBIENTALES DE RIESGO	85
1.5 ANTECEDENTES PERSONALES	88
1.6 INGRESO POR BRONQUIOLITIS:	89
A-INFECCION VIRAL	89
B-GRAVEDAD DE LA BRONQUIOLITIS	89
C) RX de tórax durante la bronquiolitis- ASMA INFANTIL	89
D) TRATAMIENTO DE LA BRONQUIOLITIS-ASMA INFANTIL	90
E) EVOLUCIÓN DEL INGRESO-ASMA INFANTIL, SOBREINFECCIÓN BACTERIANA	91
1.7 INFLUENCIA DE LA ESCOLARIZACIÓN AL AÑO DE EDAD- ASMA INFANTIL	91
1.8 EVOLUCION CLINICA	92
2. RESULTADOS ANALÍTICOS DE LOS NIÑOS CON BRONQUIOLITIS (Grupo A)	93
1. Análisis efectuados <u>durante el ingreso</u> por bronquiolitis	93
2. Análisis efectuado a los 6 meses de edad	94
3. Análisis realizada al año de edad	95
4. Análisis finales realizados a los 18 meses	96
5. Moléculas de adhesión (a los 18 meses de edad)	97
a) ANOVA sobre el factor ASMA INFANTIL en la si selectina	97
b) Anova sobre el factor ASMA INFANTIL en la s VCAM-1	97
c) Comparaciones múltiples (Scheffé)	97
6. PRUEBA CUTÁNEA en los niños con Bronquiolitis (Grupo A) PRICK TEST	120
7. Ig E específica (CAP) (Grupo A)	120
3. RESULTADOS ANALÍTICOS DEL GRUPO B (NIÑOS SANOS)	121
V. – DISCUSIÓN	122
5.1-Discusión del método	123
5.1.1 Selección de la muestra	123
5.2-Discusión de los resultados. Descripción de la muestra.	127
5.2.1. Sexo	127
5.2.2. Edad de presentación de la bronquiolitis VRS.	127
5.2.3. Antecedentes familiares de atopia	127
5.2.4. Factores ambientales de riesgo	129
1-Exposición al humo del tabaco	129
2-Animales en casa	130
5.2.5. Antecedentes personales	130
5.2-6-Características de la bronquiolitis	130
1-Situación clínica	130
2-Determinación del virus VRS en moco nasal	131
3- Radiografía de tórax	131
4-Tratamiento administrado	132
5- Evolución clínica durante el ingreso por	132

5.2-8 Resultados analíticos	134
- Durante la bronquiolitis	134
- Niños de 1-8 semanas grupo B	138
- A los 6 meses de vida	139
- Niños de 5-7 meses grupo B	142
- Al año de vida	142
- Niños de 10-14 meses grupo B	143
- A los 18 meses	143
- Niños de 16-20 meses	145
5.2.9- Pruebas cutáneas (Prick Test)	146
5.2.10. Ig E específica (CAP)	147
5.2.11. Discusión Final	148
VI.- CONCLUSIONES	150
VII.- RESUMEN	152
ANEXO.	167
1. Ficha de las visitas clínicas y analíticas de cada niño	168
2. Encuesta telefónica a los padres del grupo B	176
ABREVIATURAS	177
VIII. – BIBLIOGRAFÍA	179

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Escala de Wood Downes modificada por Ferrer	25
Tabla 2	Moléculas de adhesión implicadas en el desarrollo de la inflamación bronquial en los pulmones de pacientes asmáticos.	47
Tabla 3	Evolución a asma infantil según el sexo	81
Tabla 4	FAMILIAR DE PRIMER GRADO CON ASMA (padre, madre o hermano)	82
Tabla 5	FAMILIAR DE PRIMER GRADO CON RINITIS (padre, madre o hermano)	83
Tabla 6	FAMILIAR DE PRIMER GRADO CON ECZEMA (padre, madre o hermano)	83
Tabla 7	PADRE CON PATOLOGÍA ATOPICA (Asma, rinitis o dermatitis)	83
Tabla 8	MADRE PATOLOGIA ATOPICA (asma, rinitis o dermatitis)	83
Tabla 9	HERMANO CON PATOLOGIA ATOPICA (asma, rinitis o dermatitis)	84
Tabla 10	PADRE FUMADOR	85
Tabla 11	MADRE FUMADORA	85
Tabla 12	AMBOS FUMADORES	85
Tabla 13	Tener gato como animal doméstico	86

LA BRONQUIOLITIS

Tabla 20	INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA PREVIA	88
Tabla 21	TIPO DE VIVIENDA	88
Tabla 22	Evolución según gravedad de la bronquiolitis	89
Tabla 23	RX de tórax durante la bronquiolitis	89
Tabla 24	TRATAMIENTO CON SALBUTAMOL INHALADO	90
Tabla 25	TRATAMIENTO CON CORTICOIDES ORALES	90
Tabla 26	TRATAMIENTO CON CORTICOIDES EV	90
Tabla 27	TRATAMIENTO CON ANTIBIOTICOS EV	91
Tabla 28	EVOLUCIÓN DEL INGRESO SOBREENFECCIÓN BACTERIANA	91
Tabla 29	INFLUENCIA DEL INICIO DE LA ESCOLARIZACIÓN AL AÑO DE EDAD, EN LA EVOLUCIÓN A ASMA INFANTIL	91
Tabla 30	Análisis efectuados <u>durante el ingreso</u> por bronquiolitis	93
Tabla 31	(2º análisis efectuado a los 6 meses de edad) (50 niños)	94
Tabla 32	Grupo A (50 niños) 3ª analítica realizada al año de edad	95
Tabla 33	Grupo A (50 niños) análisis realizados a los 18 meses de edad	96
Tabla 34	ANOVA sobre el factor asma infantil en la sL-selectina	97
Tabla 35	Anova sobre el factor asma infantil en el s VCAM-1	97
Tabla 36	Comparaciones múltiples (Scheffé)	97
Tabla 37	Determinación de Ig E específica en los niños del estudio	120

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1-	Patogenia del asma	33
Fig. 2-	Inflamación y asma	39
Fig.3-	Hipótesis patogénica que explicaría el asma post bronquiolitis VRS por la inflamación neurógena.	41
Fig. 4-	Esquema de migración celular durante la extravasación	43
Fig. 5-	Selectinas.	45
Fig. 6-	Representación esquemática de la polarización celular.	46
Fig. 7-	Moléculas de adhesión e inflamación alérgica	46
Fig. 8-	Hipótesis de trabajo. Acción del VRS sobre los linfocitos	55
Fig. 9-	Acción del VRS sobre las moléculas de adhesión	56
Fig.10-	Esquema del grupo de estudio (niños con bronquiolitis).	61
Fig 11-	Grupo B (niños sanos de referencia de 1 semana a 20 meses)	63
Fig 12-	Distribución por edad en meses de los niños del estudio.	82
Fig 13-	Evolución clínica. GRUPO A	92
Fig 14-	Valores medios de la sL-Selectina	98
Fig 15-	Evolución de la Inmunoglobulina G en el grupo A	99

Fig 22- Evolución de los Linfocitos T4 en el grupo A	102	
Fig 23- Evolución de los Linfocitos T8 en el grupo A	103	
Fig 24- Evolución de la Interleucina 4 en el grupo A	103	
Fig 25- Evolución del Interferón gamma en el grupo A	104	
Fig 26- Asma infantil vs Ig A durante la bronquiolitis	105	
Fig 27- Asma infantil vs Ig M durante la bronquiolitis	105	
Fig 28- Asma infantil vs Linfocitos B durante la bronquiolitis	106	
Fig 29- Asma infantil vs Linfocitos T durante la bronquiolitis	106	
Fig 30- Asma infantil Vs Linfocitos T4 durante la bronquiolitis	107	
Fig 31- Asma infantil vs. Linfocitos T8 durante la bronquiolitis	107	
Fig 32- Asma infantil vs. Interleucina 4 durante la bronquiolitis	108	
Fig 33- Asma infantil vs Interferón gamma durante la bronquiolitis	108	
Fig 34- Asma infantil vs Ig A a los 6 meses de edad	109	
Fig 35- Asma infantil vs Linfocitos B a los 6 meses de edad	109	
Fig 36- Asma infantil vs Linfocitos T a los 6 meses de edad	110	
Fig 37- Asma infantil vs Linfocitos T4 a los 6 meses de edad	110	
Fig 38- Asma infantil vs Linfocitos T8 a los 6 meses de edad	111	
Fig 39- Asma infantil vs Interleucina 4 a los 6 meses de edad	111	
Fig 40- Asma infantil vs Interferón gamma a los 6 meses de edad	112	
Fig 41- Asma infantil vs PCE a los 12 meses de edad	113	18
Fig 42- Asma infantil vs Linfocitos B a los 12 meses de edad	113	
Fig 45- Asma infantil vs Linfocitos T8 a los 12 meses de edad	115	
Fig 43- Asma infantil vs Linfocitos T a los 12 meses de edad	114	
Fig 46-Asma infantil vs Interleucina 4 a los 12 meses de edad	115	
Fig 44- Asma infantil vs Linfocitos T4 a los 12 meses de edad	114	
Fig 47-Asma infantil vs Interferón gamma a los 12 meses de edad	116	17
Fig 48- Asma infantil vs Linfocitos B a los 18 meses de edad	117	
Fig 49- Asma infantil vs Linfocitos T a los 18 meses de edad	117	
Fig 50- Asma infantil vs Linfocitos T4 a los 18 meses de edad	118	
Fig 51- Asma infantil vs Linfocitos T8 a los 18 meses de edad	118	
Fig 52- Asma infantil vs Interleucina 4 a los 18 meses de edad	119	
Fig 53- Asma infantil vs Interferón gamma a los 18 meses de edad	119	
 FOTOGRAFIAS		
Foto 1: recogida de las secreciones nasofaríngeas por medio de una sonda de aspirado nasal	66	
Foto 2: secreciones nasales y suero fisiológico en un receptor estéril	67	

INTRODUCCION

Introducción

I.- INTRODUCCIÓN

1.1 BRONQUIOLITIS

1.1.1. DEFINICION DE BRONQUIOLITIS

Se define como una enfermedad respiratoria de inicio agudo (por una obstrucción inflamatoria de las pequeñas vías aéreas), con sibilantes de predominio espiratorio, con signos acompañantes de infección vírica como son coriza, otitis, fiebre; la edad del paciente debe ser inferior a 24 meses (preferiblemente inferior a 12 meses); será el primer episodio. ⁽¹⁾

A la bronquiolitis hay que considerarla como un síndrome, requiriendo para su diagnóstico la existencia de los siguientes criterios de carácter clínico (Mc Connochie 1983): ⁽²⁾

- 1- Disnea espiratoria de comienzo agudo.
- 2- Edad inferior o igual a 24 meses.
- 3- Signos de enfermedad respiratoria vírica como coriza, otitis media o fiebre.
- 4- Con o sin indicios de distres respiratorio, neumonía o atopia.
- 5- Primer episodio

O la presencia de hipoxia (saturación de oxígeno <95% determinado por pulsioximetría) e hiperinsuflación en la radiografía de tórax en ausencia de broncoespasmo en un niño de 1 a 24 meses de edad. ⁽³⁾

1.1.2. ETIOLOGIA

1.1.3. EPIDEMIOLOGÍA

La alta contagiosidad natural del VRS se demuestra por el hecho que al menos el 50% de los niños contraen la infección por el VRS durante su primera epidemia y que casi todos los niños se han infectado antes de los dos años. La reinfección es frecuente en todas las edades. ⁽⁹⁾

Características del huésped y del virus:

1- Factores del huésped: incidencia máxima en los 6 primeros meses de vida, predominando en niños. Además mayor gravedad en los niños, pues las niñas tienen mayor calibre de las vías aéreas. ^(5,6)

Existe riesgo de enfermedad grave en prematuros, pacientes con broncodisplasia, inmunodeprimidos, menores de 3 meses, bajo peso, historia familiar de atopia y cardiopatías. Se atribuye cierto efecto protector a la lactancia materna.

2-Factores del virus: se transmite por contacto con fomites contaminados o persona a persona: gotas gruesas (partículas ambientales contaminadas, como el polvo doméstico), pero no por aerosolización de pequeñas partículas, el contacto se hará a través de la conjuntiva o vía nasal pero no por la mucosa oral. ⁽⁶⁾ Para impedir la transmisión debe utilizarse gorro y guantes, no es necesario máscaras. ⁽²⁾

La infección por el virus respiratorio sincitial es la responsable del 50-90% de los casos de bronquiolitis en los niños por debajo del año de edad. Este virus ARN es el agente infeccioso más frecuente en la patología respiratoria del lactante y primera infancia. El VRS pertenece a la familia de los *Paramyxoviridae* y al género *Pneumovirus*, su hábitat es el hombre y su distribución mundial. ⁽²⁾

Existen dos subtipos de virus, denominados A y B, cuya diferencia fundamental está en la glicoproteína G responsable de la unión del virus a la superficie de las células que infecta. ⁽¹⁰⁾ Otra glicoproteína denominada F efectúa la fusión a la célula respiratoria; ambas proteínas son esenciales para que el virus infecte e interactúe con el sistema inmune. ⁽¹¹⁾

22

El VRS presenta un patrón estacional relativamente constante con epidemias que duran de 3 a 5 meses. Estas epidemias ocurren característicamente desde fines de otoño, abarcando los meses invernales y marzo, afectando sobretodo a áreas urbanas. La mayor incidencia de ingresos hospitalarios por bronquiolitis y neumonías por VRS corresponde a niños entre 2 y 5 meses de edad.

El VRS puede producir catarro común, crup, bronquitis, bronquiolitis o neumonía intersticial. ²¹

Una vez el virus penetra en las células del epitelio mucoso respiratorio, se produce la replicación vírica pasando el virión rápidamente de célula a célula y más tarde a sangre (viremia).

La respuesta inmunitaria que se establece es variada, se forman anticuerpos Ig M, Ig G e Ig A detectables en suero, con poca capacidad de defensa inmune; anticuerpos Ig A secretados en mucosa bronquial que actúan parcialmente como defensa de barrera frente a sucesivas reinfecciones; linfocitos T citotóxicos, que reconocen células infectadas por VRS asociados con antígenos HLA1 y las destruyen, siendo éste el mecanismo defensivo más efectivo, pero conlleva destrucción celular y aparición secundaria de síntomas, debido a descamación celular y posible lesión epitelial.

La inmunidad que confiere no es definitiva y se producen reinfecciones posteriores, pero sí parece haber una inmunidad parcial, porque las reinfecciones por VRS son siempre más leves que la primoinfección. ⁽¹¹⁾

Todos los recién nacidos presentan en su suero anticuerpos contra el VRS procedentes de su madre. El nivel de anticuerpos en el recién nacido a término es similar al de su madre, con un descenso gradual a lo largo de los primeros 6 meses. Después de los 7 meses de edad, la presencia de anticuerpos en el suero generalmente es por la infección natural.

La inmunidad contra el virus respiratorio sincitial es de corta duración e incompleta. Los anticuerpos contra la glicoproteína de superficie protegen parcialmente, ya que existen reinfecciones en el 25% de los sujetos.

1.1.4. ANATOMIA PATOLÓGICA.

Se produce necrosis del epitelio bronquiolar, con desaparición de los cilios, aparece infiltrado peribronquiolar de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. Hay edema adventicial y submucoso e hipersecreción de moco pero no se afectan ni el tejido elástico ni el muscular; todo ello origina obstrucción de pequeños bronquiolos con colapso o enfisema distal. Las lesiones pueden ser parcheadas. ^(5,12)

1.1.5. FISIOPATOLOGIA.

Una vez que se han producido los tapones de moco y detritus celulares se produce obstrucción total o parcial de la vía aérea con 3 posibilidades: ⁽⁵⁾

- a) Obstrucción valvular que permite solo la entrada de aire resultando un atrapamiento aéreo.
- b) Obstrucción valvular que permite solo la salida de aire, resultando en atelectasias de formación rápida.
- c) Obstrucción total que impide el flujo de aire con formación gradual de atelectasias.

La patogénia producida por la infección por el VRS está en función del efecto citopático viral directo y de la respuesta inmune del huésped. Las glicoproteínas de superficie del virus juegan un papel predeterminante en la patogénia. La glicoproteína G interviene a la adhesión a la célula que favorece la replicación del VRS al unirse con los receptores celulares que contienen ácido siálico. La glicoproteína F interviene en la fusión de la cubierta lipídica del virus con la membrana plasmática de la célula.

El lactante se afecta de forma especial por sus peculiaridades anatómicas: menor conductancia de la vía aérea periférica, menor consistencia del cartílago bronquial, mayor número de glándulas mucosas, incompleto desarrollo del músculo liso bronquial y menor elasticidad de los pulmones. ⁽¹³⁾

Otra explicación a la hiperreactividad observada en la vía aérea en los niños después de tener una infección por el VRS es una alteración del ~~introducción~~ nervioso de la contractibilidad del músculo liso bronquial. El VRS lesiona el epitelio respiratorio lo cual puede aumentar la estimulación nerviosa o actuar como desencadenante para producir una ~~bronquiolitis~~. ⁽¹⁴⁾

1.1.6. SINTOMATOLOGIA

El periodo de incubación dura de 4 a 5 días, luego el virus se replica en la nasofaringe y se disemina a vías inferiores. Aproximadamente un tercio de pacientes tienen síntomas de vías bajas, que se presentan 1-3 días después de aparecer los síntomas de vías altas; aparecen tos, febrícula y luego dificultad respiratoria progresiva con aparición de sibilancias. ⁽⁵⁾

En la mayoría de los casos el paciente se recupera en 7-12 días, pero en los casos más severos progresan la tos y la dificultad respiratoria, aparece rechazo del alimento, taquipnea y en algunos casos cianosis y crisis de apnea. ⁽⁵⁾

La saturación arterial de oxígeno es el mejor indicador de la gravedad de la enfermedad, la hipoxia puede persistir 7 semanas después del inicio de la bronquiolitis. ⁽¹⁴⁾

Hay una serie de circunstancias que facilitan la insuficiencia respiratoria en el lactante:

- escaso calibre de las vías aéreas (radio pequeño = resistencia elevada)
- Exceso de glándulas mucosas y escasa ventilación colateral
- Superficie alveolar/ superficie corporal 10/1 cuando en el adulto es 27/1 (polipnea fisiológica del lactante)
- Postura en decúbito y períodos largos en sueño REM (hipotonía intercostales con mayor dificultad respiratoria)
- Morfología del tórax (circular en el lactante, elíptico en el adulto), diafragma y costillas horizontalizadas = mayor trabajo respiratorio
- Disminución de colágeno y elastina y mayor compliance del tórax (propensión al colapso vías aéreas).

Introducción

La gravedad de la bronquiolitis aguda se clasifica según la Escala Wood-Downes modificada por Ferrer, basada en 6 parámetros clínicos: TABLA 1⁽¹⁵⁾

Puntos	0	1	2	3
Sibilancias	No	Final espiración	Toda espiración	Ins + espiración
Tiraje	No	Subcostal +intercostal inferior	Previo+supra clavícul+alet eo nasal	Previo+Inter.- costales superior+ supra-esternal
Frecuencia respirator.	<30	31-45	46-60	>60
Frec cardiaca	<120	>120		
Entrada aire	Buena simétri.	Regular simétrica	Muy disminuida	Tórax silente
Cianosis	No	Si		

Crisis	Leve 1-3 puntos	Mod. 4-7	Grave 8-14	

1.1.7. DIAGNOSTICO

En la radiología de tórax se detecta atrapamiento aéreo, engrosamiento peribronquial y a veces atelectasias laminares.^(5,6) Las áreas de consolidación sugieren una neumonía por VRS.⁽¹⁴⁾

La ausencia de portadores sanos del VRS confiere valor diagnóstico a su detección en cualquier tramo de las vías respiratorias. En consecuencia, para el diagnóstico de infecciones de vías bajas, es correcto trabajar con muestras obtenidas en las vías altas.⁽¹⁶⁾

El diámetro de las partículas infecciosas oscila entre 150 y 300 nm y suelen sobresalir de la célula huésped dando lugar a formas filamentosas de unas 10 u de longitud. Por su estructura y tamaño apenas se parecen a otro virus respiratorio y es por ello fácil de identificar.⁽¹¹⁾

El diagnóstico definitivo se realiza analizando las secreciones nasofaríngeas por inmunofluorescencia o enzimoimmunoanálisis (ELISA) y cultivo celular para la detección del virus.⁽⁵⁾ El virus es excretado con las secreciones respiratorias durante 6-7 días.⁽⁵⁾ La detección de antígeno por inmunofluorescencia en las células de descamación faríngea es una técnica para obtener resultados fiables requieren sueros de calidad irreprochable. Aunque el cultivo, en la fase aguda, es la técnica más sensible para el diagnóstico de la infección, presenta el inconveniente de la lentitud.⁽¹⁶⁾

1.1.8. RECIDIVAS

Después de una bronquiolitis por el VRS es frecuente la recidiva de episodios de sibilancias. Hasta un 30-80 % de los lactantes que han padecido una bronquiolitis importante tienen posteriormente sibilancias.^(18,19,20)

La prevalencia de estas recidivas va disminuyendo hacia los 3.5 años de edad, aunque diez años después persisten, en algunos pacientes, una labilidad bronquial medida por test de histamina o post ejercicio.^(14,21) No es fácil determinar a priori que lactantes presentarán recurrencias.⁽¹⁵⁾

Existen varias hipótesis para explicar porque, algunos lactantes presentan recidivas frecuentes:

1- Daño del epitelio bronquiolar con vulnerabilidad residual posterior; es poco probable que las alteraciones producidas por el VRS puedan prolongarse durante mucho tiempo. Lo más probable es que el virus provoque aumentos transitorios de la reactividad bronquial, incluso en no atópicos, y que el VRS dificulte el normal declinar de la hiperreactividad que ocurre con la edad, puesto que los lactantes son relativamente hiperreactivos en comparación con los adultos.⁽¹⁸⁾

2-Inducción por VRS de un desequilibrio Th1/Th2.⁽¹⁸⁾

3- Afecta a pacientes que nacen con disminución del calibre del tamaño de las vías aéreas. El VRS es el agente causante de las "identificas". En

1.1.9. TRATAMIENTO

Existen varias posibilidades:

- 1) etiológico con antivirales como la Ribavirina.
- 2) tratamiento sintomático del broncoespasmo con broncodilatadores, adrenalina y corticoides.

1) Ribavirina; es un análogo sintético de la guanosina e inosina que interfiere la expresión del RNA mensajero e inhibe la síntesis proteica viral. Se vió que los niños tratados con Ribavirina estaban menos expuestos a sufrir bronquitis disneizante o asma que los no tratados, pero los elevados riesgos derivados de su uso desaconsejan su empleo.⁽¹¹⁾ Las nuevas normas de la Academia Americana de Pediatría recomiendan el uso restringido a lactantes de riesgo como prematuridad, broncodisplasia (etc).⁽²⁴⁾

2) Sintomático: a los pacientes se les administra líquidos y oxígeno para que mantengan una saturación por encima de 92-93%. Se hará prueba de administración de broncodilatadores puesto que en algunos estudios han mejorado la oximetría y los escores de trabajo respiratorio.^(5,25) Se continuará o no este tratamiento según la respuesta individual de cada paciente. No se ha podido demostrar la utilidad de los corticoides inhalados o intravenosos ni en el momento agudo ni en las recaídas posteriores.⁽⁵⁾

3) Otros tratamientos no establecidos definitivamente son: aplicación de presión positiva en la vía aérea, ventilación con mezcla helio-oxígeno y aporte de surfactante en pacientes intubados.⁽²⁶⁾

1.1.10. PROFILAXIS

1-Profilaxis activa: no se ha podido desarrollar una vacuna efectiva y segura; al contrario con una vacuna inactivada se produjeron casos más graves en los vacunados. Se siguen realizando intentos dirigidos hacia la glicoproteína F (de fusión) del virus, por ser muy similar entre los subtipos A y B del virus, ser estable y más antigénica.^(5,27)

2-Profilaxis pasiva: En la actualidad se utiliza un preparado de anticuerpos Ig G monoclonales humanizado anti-VRS (palivizumab) que inhibe específicamente el epítipo del sitio antigénico A de la glucoproteína F, muy estable con todos los serotipos del VRS,⁽¹⁷⁾ para su administración intramuscular, tras demostrarse que reduce entre un 41-55% el riesgo de hospitalización en pacientes pediátricos de alto riesgo⁽²⁸⁾ y en un 60% los días de necesidad de oxígeno. No se necesita de oxígeno. Es segura y bien tolerada. Se administra una vez al mes a dosis de 15 mg/Kg. Se usa en períodos epidémicos. Como inconveniente su alto coste.^(26,29,30)

Recomendaciones para el uso de Palivizumab:

- Considerar para lactantes y niños menores de 2 años con enfermedad pulmonar crónica (EPC) que han precisado tratamiento para la misma en un plazo de 6 meses antes de la estación anticipada de infección por VRS
- Niños nacidos sin EPC pero con 32 semanas de gestación o menos (los nacidos con 28 semanas o menos hasta los 12 meses de edad; los nacidos entre 29-32 hasta los 6 meses)
- Entre las 32 y 35 semanas de gestación considerar riesgos adicionales a solo considerar la edad de gestacional.
- No indicada en cardiopatías congénitas (contraindicada en cardiopatías cianóticas) ni inmunocomprometidos (pero puede usarse en inmunodeficiencias graves).
- No interfiere con las vacunas. Debe emplearse la profilaxis al inicio de la estación VRS y terminarla al final de la misma.⁽¹⁷⁾

Otros tratamientos: se han realizados ensayos con inmunoglobulinas con títulos elevados de anticuerpos neutralizantes del VRS por vía intravenosa (VRS-IGIV). Los inconvenientes son: elevado coste, incomodidad de administración (una vez al mes, intravenosa y administrada en varias horas).

Otras alternativas potenciales son la administración de Ig A anti VRS por vía tópica intranasal⁽⁵⁾ y la inmunización anti-VRS de la

1.2 ASMA DEL LACTANTE

El asma bronquial es un problema médico importante en todo el mundo y la enfermedad crónica más frecuente entre los pacientes pediátricos, así mismo conlleva un costoso tratamiento y un elevado absentismo escolar ⁽³²⁾. Dado su carácter recurrente, evolución a la cronicidad y elevada morbilidad tiene un gran impacto sobre el niño y su familia. ⁽⁴⁾

1.2.1 DEFINICION.

El último consenso internacional pediátrico da la siguiente definición:

“Hablaemos de asma del lactante cuando se produzcan tres o más episodios de sibilancias y/o tos (el primero de ellos antes de los 12 meses) en un marco clínico en que el diagnóstico de asma sea el más probable, y se hayan excluido otros diagnósticos menos frecuentes. No se ha podido incluir el concepto de inflamación eosinófila de las vías aéreas, debido a que no se dispone de información suficiente de su presencia en los niños pequeños con asma leve y moderada.

El GINA (Global Initiative for Astma (Consenso Internacional)) reconoce dos patrones de asma en la infancia, probablemente con distinto mecanismo patogénico. 1- Uno es el de niños con episodios recurrentes de sibilancias asociados a infecciones respiratorias víricas, a menudo después de un primer episodio de bronquiolitis (VRS+), que aparecen en pacientes sin antecedentes familiares o personales de atopía. En ellos suele disminuir la sintomatología en años sucesivos y no existe evidencia de que padecerán asma en el futuro, aunque pueden existir defectos menores del funcionalismo pulmonar y aumento de hiperreactividad bronquial. Este síndrome puede tener más que ver con el tamaño y morfología del árbol bronquial que con posibles mecanismos inflamatorios de las vías aéreas. 2- Otro grupo de niños presenta un fondo atópico. En estos niños sí puede estar presente la inflamación de las vías aéreas características del asma”. ⁽³³⁾

1.2.2. EPIDEMIOLOGIA

El asma aparece en todas las capas sociales pero es más frecuente en las capas medias y altas. El aumento de la prevalencia del asma parece deberse a cambios en el medio ambiente interior y exterior (la climatización de las casas aumento de animales de compañía, contaminación atmosférica y humo del tabaco).

1.2.2.1-Historia natural del asma:

Analizando varios trabajos se llega a la conclusión de que la evolución del asma es muy distinta dependiendo de la edad en que comiencen los síntomas. Los sibilantes del primer año de vida, no son un indicador pronóstico de llegar a padecer asma o un asma más grave en los años siguientes, más bien el pronóstico suele ser bueno y solo persisten con síntomas entre el 15-40% de los niños. En este grupo, de inicio precoz, el pronóstico depende de los antecedentes familiares y personales de atopía, si son positivos un 80% de ellos persistirán con asma, si no son atópicos solo el 20% persistirán con asma en la adolescencia o en la edad adulta. ⁽³³⁾

Martínez y Wilson describen tres posibles situaciones en los niños que tienen sibilancias en los dos primeros años de vida:

a) La mayoría son niños con “sibilancias de inicio precoz y carácter transitorio” que tienden a resolverse en los tres primeros años de vida, ausencia de hiperrespuesta a metacolina a los 11 años y no se asocia a historia familiar de asma ni marcadores de atopía. La fisiopatología, es una menor función pulmonar presente antes del inicio de los síntomas y el principal factor de riesgo es que fume la madre durante el embarazo.

b) Una minoría puede corresponder a un “asma de inicio precoz” que predomina en varones y se asocia a la persistencia de sibilancias y evolución a asma atópica. Este grupo tiene una alta prevalencia de historia

1.2.2.2 Criterios de riesgo de asma

El Dr. FD Martínez propone el siguiente algoritmo para definir el riesgo de asma.

Criterios mayores:

- Hospitalización por bronquiolitis/ episodios graves de sibilancias.
- Al menos tres episodios de sibilancias en los últimos 6 meses.
- Historia parental de asma.
- Dermatitis atópica.

Criterios menores:

- Rinorrea fuera de los resfriados
- Sibilancias fuera de los resfriados.
- Eosinofilia $\geq 5\%$
- Sexo masculino.

Existe riesgo $>$ a 2/3 de persistencia de sibilancias a los 3 años, en caso de presencia de:

- Los 2 primeros criterios mayores, o
- Uno de los dos primeros criterios mayores más uno de los otros mayores, o
- Uno de los dos primeros criterios mayores más dos de los criterios menores.

Si la alergia es realmente una enfermedad de la "sociedad moderna" cuales son los elementos de la sociedad o los factores ambientales responsables del incremento de la frecuencia y de la gravedad de la misma. ⁽³²⁾

1.2.2.3. Factores predisponentes:

- La atopia: es el más importante, consiste en la predisposición a producir cantidades anormales de Ig E en respuesta a la exposición a alergenios.
- Sexo: en la infancia el asma predomina en niños.

1.2.2.4 Agentes etiológicos

- El principal agente causal es la inhalación de alergenios:
- Alergenios del interior:
- Ácaros del polvo doméstico: responsable más frecuente de asma en

Introducción.

- Alergenios de animales de compañía
- Cucarachas
 - Mohos
 - Alergenios del exterior
 - Pólenes
 - Mohos
- Alérgenos ocupacionales (muy poco frecuente en pediatría)

1.2.2.5 Factores que contribuyen al desarrollo del asma

- Humo del tabaco
- Contaminación atmosférica
- infecciones respiratorias(virales)

1.2.2.6 Factores desencadenantes del asma:

- El principal es la exposición a alergenios
- Infecciones respiratorias
- Contaminación atmosférica
- Alimentos
- Fármacos, ejercicio e hiperventilación.

1.2.3. PATOGENIA DEL ASMA

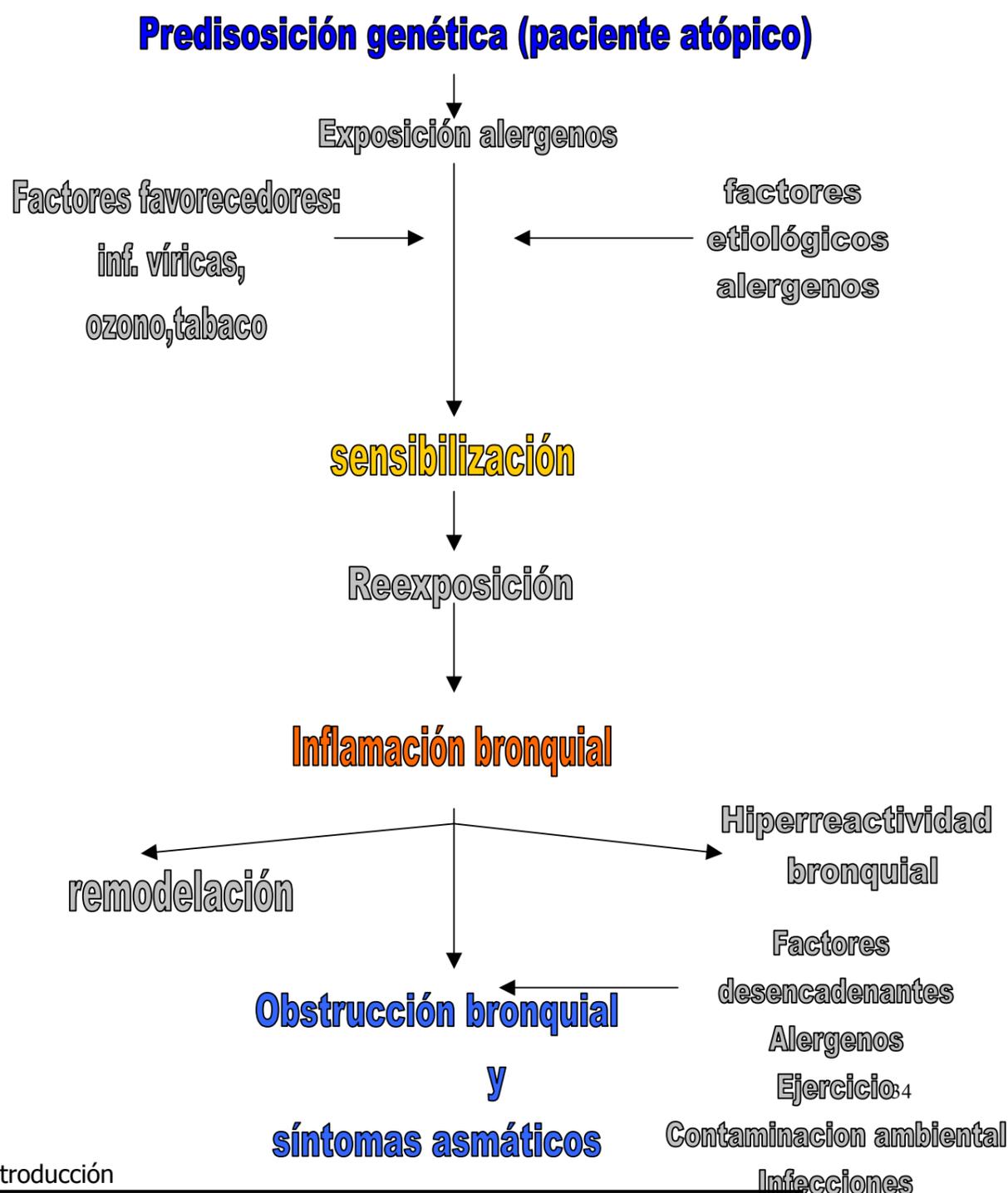


Figura 1. Patogenia del asma

Este esquema de la patogenia del asma (Figura 1) sería válido para el asma infantil, el cual es un asma principalmente atópica en el que la sensibilización a diferentes alérgenos está presente en más del 80% de los niños escolares que padecen asma.

En cambio en el asma del lactante no se dispone de pruebas que permitan establecer una unión entre las sensibilizaciones de los dos primeros años de vida y la atopia o la sensibilización a alérgenos. ⁽³³⁾

1.2.4. DIAGNÓSTICO

1.2.4.1 Anamnesis: antecedentes familiares y personales, síntomas, características de la crisis, intervalo intercrisis, desencadenantes.

1.2.4.2 Exploración física: vía respiratorias altas y bajas, piel.

1.2.4.3 Estudio de la función pulmonar: la espirometría. Ésta es imposible de realizar, por falta de colaboración, en niños menores de 5 años. Por ello en ellos se utiliza, la pletismografía que mide la distensibilidad y resistencias pulmonares, esta técnica se basa en el registro simultáneo del flujo respiratorio (por medio de neumotacógrafo conectado a una mascarilla facial) y la presión transpulmonar calculada como la diferencia entre la presión media de la boca y la presión esofágica (medida por un catéter conectado a un balón insertado en el tercio medio del esófago). Otra técnica para medir la distensibilidad y las resistencias de las vías aéreas están basadas en maniobras de obstrucción temporal y liberación posterior de la respiración ((RINT) que se puede utilizar a partir de 2 años.

1.2.4.4 Pruebas de laboratorio: Las cifras de Ig E en suero y la proteína catiónica eosinófila, no sirven para el diagnóstico etiológico, pero su elevación nos indicará que hemos de seguir a estos niños por la posibilidad

Introducción

1.2.4.5 Diagnóstico diferencial con enfermedades respiratorias:

Fibrosis quística, síndrome aspirativo, aspiración de cuerpo extraño, Síndrome de cilios inmóviles, inmunodeficiencia primaria, malformaciones cardiacas o de las vías respiratorias, sinusitis, reflujo gastroesofágico.

1.2.4.6 Exámenes complementarios

Rx de tórax, senos y cavum, test del sudor, inmunoglobulinas, Mantoux.

1.2.4.7 Clasificación de la gravedad: en función de los parámetros clínicos y de la necesidad de broncodilatadores:

Estadio 1: Asma episódica infrecuente: el niño que padece 1 o 2 episodios de dificultad respiratoria en un período de 3 meses, no precisa ingreso aunque la intensidad de las crisis pueden ser de suficiente gravedad como para necesitar una tanda corta de corticoides sistémicos para su resolución. Intervalo intercrisis libre de síntomas (tos, sibilantes o disnea) duerme y come sin problemas, ríe y juega sin disnea.

Estadio 2: Asma episódica frecuente: El niño que padece tres o cuatro episodios de dificultad respiratoria en un periodo de tres meses, que no precisan ingreso y con intervalo intercrisis libre de síntomas.

Estadio 3: Asma moderada persistente: el niño que cumpla cualquiera de estas características:

- Cinco o seis episodios de dificultad respiratoria en un periodo de tres meses.
- Haber necesitado un ingreso (en los últimos 3 meses)
- Menos de 5 episodios de dificultad respiratoria pero de larga duración –3-4 semanas cada crisis- con breves periodos asintomáticos de una a dos semanas de duración.
- Intervalo intercrisis con necesidad de Beta 2 "a demanda" tres o más días

Estadio 4: Asma grave persistente: Niño con más de 6 episodios de dificultad respiratoria, dos o más ingresos en un período de tres meses, con intervalo intercrisis continuado: no puede correr o jugar sin disnea, o necesidad de Beta 2 tres o más días por semana.

36

1.2.5. TRATAMIENTO

Abordaje escalonado del tratamiento del lactante y niños pequeños (de edad igual o inferior a 5 años) con asma aguda o crónica. ⁽³⁴⁾

Clasificación de manifestaciones o tratamiento	La gravedad: clínicas antes del control adecuado	Medicaciones necesarias para mantener el control a largo plazo
	Síntomas/DIA Síntomas/noche	Medicaciones diarias
Paso 4 Grave Persistente	Continuo frecuente	Tratamiento preferido: -Corticoides por inhalación a dosis altas y agonistas beta2 de acción prolongada por inhalación -Y en caso necesario: jarabe de corticoides a largo plazo (2mg/Kg/dia)
Paso 3 Moderada Persistente	Diariamente >1 noche/semana	Tratamiento preferido: -Corticoides por inhalación a dosis bajas y agonistas beta2 de acción prolongada por inhalación o -corticoides por inhalación a dosis medias. Tratamiento alternativo: - corticoides por inhalación a dosis bajas y agonistas de receptores de leucotrienos o teofilina.
Paso 2 Episódica frecuente	>2 semana pero < 1dia/ >2 noches /mes	Tratamiento preferido Corticoides por inhalación a dosis bajas (con nebulizados o MDI

Introducción

Objetivos del tratamiento: control del asma

- Síntomas crónicos mínimos o inexistentes de día o de noche
- Exacerbaciones mínimas o inexistentes
- Ausencia de limitaciones en las actividades; ninguna falta de asistencia a la escuela /trabajo de los padres
- Empleo mínimo de agonistas beta 2 de acción corta por inhalación (<1x al día, < 1/cartucho /mes)
- Efectos adversos mínimos o nulos de la mediación

1.2.6 PREVENCIÓN DEL ASMA

Prevención primaria: reducción de las posibilidades de padecer la enfermedad: evitar los factores favorecedores de problemas respiratorios, exposición a tabaco pre y postnatal, exposición a alérgenos potentes (epitelios), profilaxis de procesos infecciosos.

Prevención secundaria: para evitar la progresión de la enfermedad: diagnóstico precoz y etiológico insistiendo en la evitación de factores de riesgo y desencadenantes y la posibilidad de efectuar intervenciones farmacológicas y terapéuticas en determinados grupos de riesgo.

Prevención terciaria: intentar detener la progresión de la enfermedad y revertir el daño. Tratamientos antiinflamatorios (cromonas y corticoides inhalados) son decisivos y su uso precoz puede cambiar el curso de la enfermedad.

Introducción

1.3- BRONQUIOLITIS Y ASMA

Gran número de autores constatan que un porcentaje de niños (entre un 25-57%, otros hasta un 71%)³⁷ presentan asma bronquial en los años posteriores al primer brote de bronquiolitis por VRS.

El efecto citopático del virus es el que produce la dificultad respiratoria en el brote agudo de bronquiolitis. Durante el primer año de vida el calibre de los bronquiolos es pequeño en comparación con la superficie alveolar, el cartílago es blando y hay un número de glándulas mucosas mayor que en otras edades. Esta situación favorece la fácil oclusión de la vía aérea por fenómenos mecánicos. A ello se une la acción del virus que destruye células epiteliales, mucosas, produce inflamación y descamación del epitelio mucoso, aumento de detritus que taponan los finos bronquiolos del niño. Como resultado de la necrosis celular y descamación epitelial, quedan al descubierto los receptores vagales, que al ser estimulados por el frío, o la acción mecánica de la descamación, condicionan la aparición de broncoespasmo y disnea.

Esto explica la disnea en la fase aguda, pero no la presentación de broncoespasmo y disnea posterior.

La inflamación de la mucosa bronquial por el VRS puede persistir hasta 6-7 semanas después de la curación del primer episodio. Las futuras reinfecciones virales producirán disnea por irritación de los receptores vagales al descubierto.

En la inflamación de cualquier origen, los leucocitos polimorfonucleares y los macrófagos activados van al foco celular y liberan radicales libres de oxígeno, proteasas y metabolitos del ácido araquidónico, todos ellos lesionan al epitelio bronquial y denudan los receptores vagales, como resultado inespecífico condicionan la aparición de broncoespasmo (Figura

INFLAMACIÓN Y ASMA

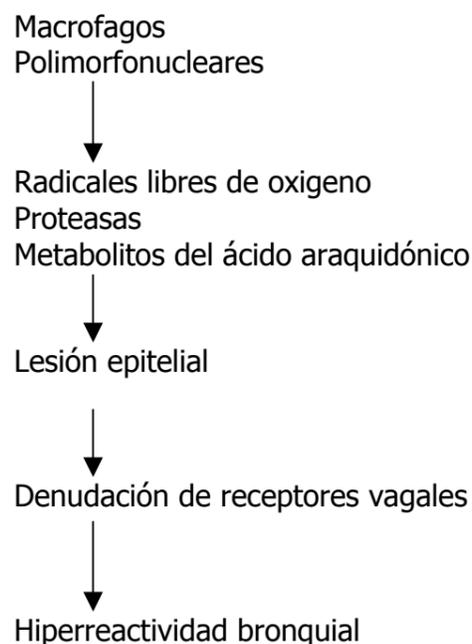


Figura 2: inflamación y asma

La replicación vírica en las células epiteliales inicia los fenómenos lesivos respiratorios que incluyen proteólisis de linfocitos B y activación de los neutrófilos, aumento de la secreción de múltiples citoquinas (IFN- γ), quimiocinas (IL-8) y **moléculas de adhesión**, que están elevadas en las vías aéreas durante la infección vírica y a su vez reclutan y activan células inflamatorias (neutrófilos, eosinófilos y células T activadas) que se encuentran igualmente elevadas en el asma. ^(11,35)

Además la acción del virus sobre los receptores Beta bronquiales, es de bloqueo, con lo que aparece tendencia al broncoespasmo e hiperreactividad bronquial.

La mucosa inflamada, con las uniones intercelulares alteradas, facilita la penetración de neuroalérgenos a su través, la sensibilización y la presentación de asma bronquial extrínseca. En este sentido estarán más predispuestos los niños con historia familiar de atopia, Ig E elevada ~~previamente a la enfermedad~~, niños con enfermedades alérgicas asociadas e ~~hijos de madres fumadoras~~. ^(11,35)

En trabajos recientes se ha demostrado la hipótesis de que las proteínas G del VRS inducen el estímulo de los Linfocitos TH2, característica de las reacciones alérgicas, en detrimento de TH1, que libera IL-4, la cual estimula la producción de Ig E y la sensibilización a neuroalérgenos y alérgenos de faneras animales. ⁽³⁵⁾

Piedimonte et al, aportan una hipótesis patogénica que explicaría el asma post bronquiolitis VRS es la de la inflamación neurógena. Los pulmones inmaduros del lactante tiene elevadas inervaciones nerviosas, las cuales son estimuladas por el VRS que da lugar a la liberación de sustancia P, cuyo receptor de alta afinidad (NK-1) se encuentra en los vasos y células como neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y macrófagos. Como consecuencia de ello en los vasos se produce aumento de la permeabilidad y edema, los neutrófilos y eosinófilos emigran al pulmón y los linfocitos y macrófagos secretan citoquinas, todo lo cual constituye la inflamación de las vías aéreas. Después de la resolución de la infección aguda la estimulación de los nervios pulmonares por aire frío, alérgenos o irritantes, induce inflamación recurrente mediada por linfocitos T que expresan NK-1. (Figura 3) ⁽¹¹⁾

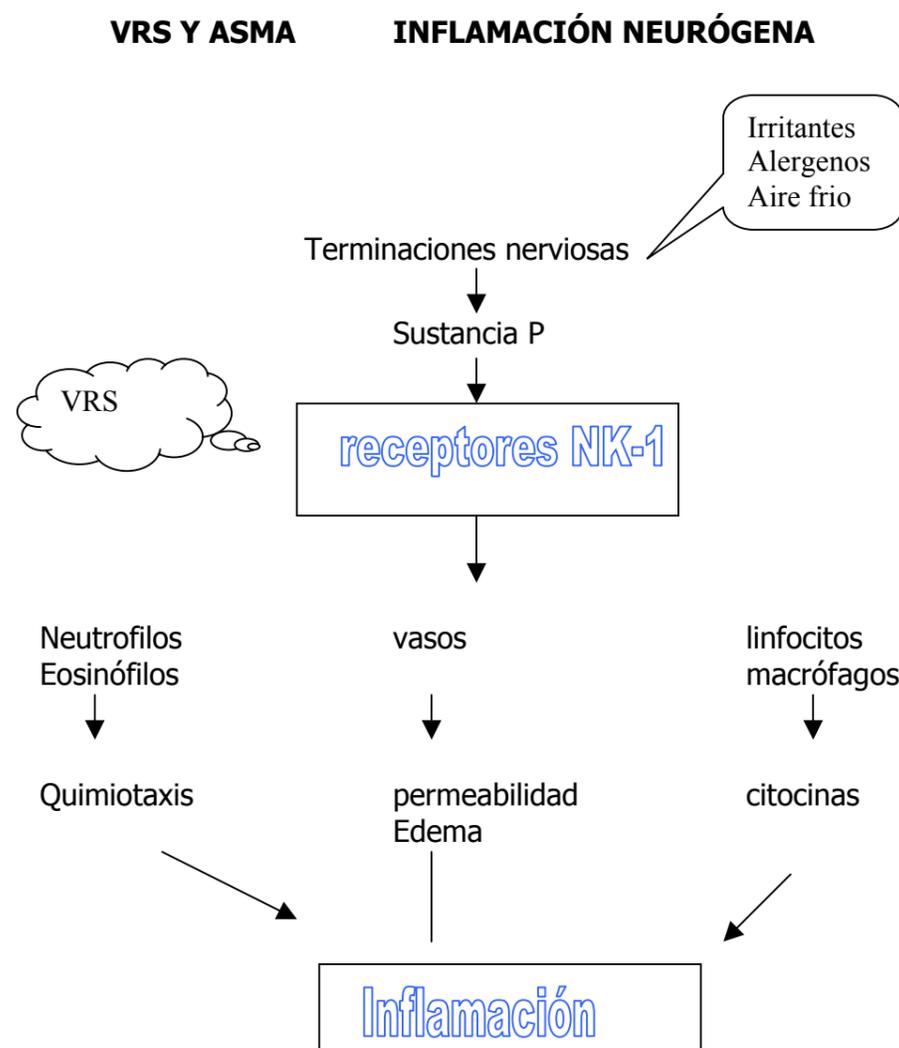


Figura 3. Hipótesis patogénica que explicaría el asma post bronquiolitis VRS por la inflamación neurógena.

1.4 MOLECULAS DE ADHESIÓN:

Las moléculas de adhesión desempeñan un papel clave en la reacción inflamatoria alérgica, puesto que son absolutamente necesarias para que las células inflamatorias lleguen desde la sangre al lugar de la reacción, por rodamiento, activación y migración, a través de la pared endotelial. ⁴¹ (36)

1.4.1-Definición:

Son glicoproteínas de membrana que intervienen en el contacto entre dos células o entre la célula y la matriz extracelular. Su objetivo es el de mantener el contacto entre dos células el tiempo necesario para que se produzca la comunicación entre ambas y se lleve a cabo la función indicada.

1.4.2-Función de las moléculas de adhesión:

-Funciones primordiales:

- 1-Adhesión de los leucocitos circulantes al endotelio vascular.
- 2-Migración transendotelial de los leucocitos circulantes.
- 3- Retención de células en la matriz extravascular.
- 4-Modificación del estado de las células inmuno competentes (estimulación, apoptosis)
- 5-Mantenimiento de la integridad vascular
- 6-Son receptores de algunos patógenos: p.e: ICAM-1 para el Rinovirus.

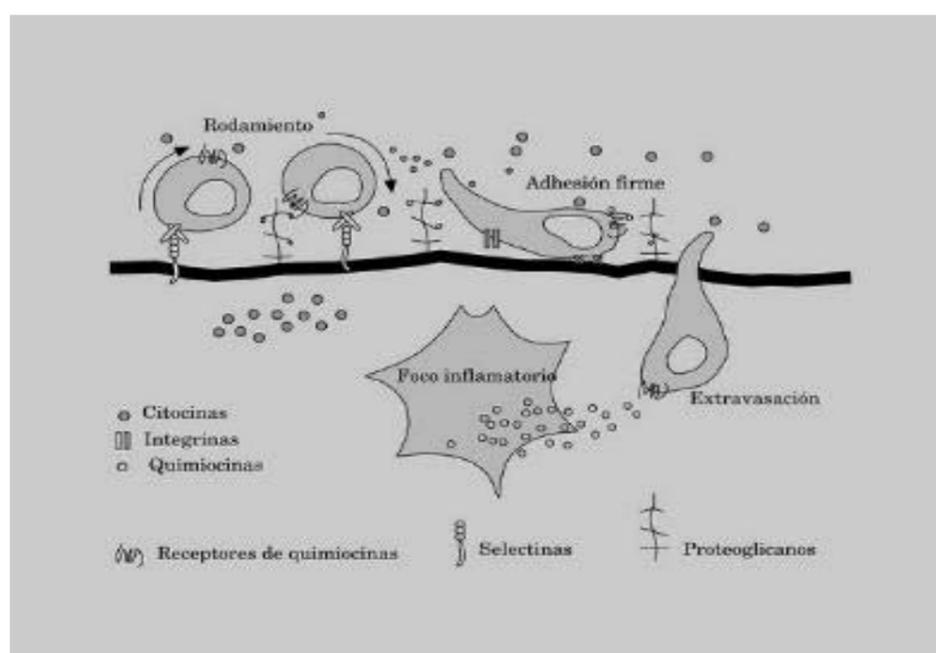
Las moléculas pueden actuar como receptores o como ligandos específicos para esos receptores y son expresadas tanto en leucocitos y células endoteliales como en células epiteliales. La adherencia intercelular y la unión de las células a los materiales de la matriz extracelular son esenciales para...

Introducción

1.4.3-Cascada de las moléculas de adhesión:

En reposo los leucocitos casi no se unen al endotelio vascular. En la inflamación, mediadores como la histamina, los leucotrienos, prostaglandinas y varias citocinas son liberadas localmente por los mastocitos, macrófagos y células T. Estos mediadores inflamatorios, actúan como inductores de la acción de las moléculas de adhesión iniciándose por ello la migración leucocitaria de la corriente sanguínea a las zonas inflamatorias extravasculares.

Después de que los leucocitos hayan iniciado el rodamiento dirigido por el endotelio vascular, como consecuencia de la interacción lábil entre las selectinas y sus ligandos, se produce la adhesión firme al endotelio. Este proceso es mediado por otras moléculas, las integrinas, que al interaccionar directamente con el citoesqueleto celular transmiten rápidamente la señal al interior de la célula, de ahí precisamente su nombre, ya que son integradoras de señales al interior celular. ⁽³⁷⁾ El proceso de adhesión se produce secuencialmente en forma de cascada actuando las moléculas de adhesión (Fig 4).



44

Introducción Esquema de migración celular durante la extravasación. Se representan los pasos sucesivos y las moléculas implicadas en la extravasación leucocitaria desde el torrente circulatorio a los focos de inflamación. ⁽³⁷⁾ Las reacciones alérgicas, con la liberación de citocinas y factores eosinotácticos a los tejidos estimulan la formación de eosinófilos en la médula ósea y los atraen hacia la sangre. El eosinófilo deja la circulación sanguínea cuando se activan las moléculas de adhesión. Estas moléculas actúan en varias fases:

- 1- Unión del eosinófilo a la pared endotelial
- 2- Deslizamiento de este leucocito a lo largo de la pared vascular
- 3- Aplanamiento del eosinófilo con modificación de su forma.
- 4- Trasmigración por diapédesis a través de la pared vascular por la unión entre dos células endoteliales.
- 5- Llegada del eosinófilo a la lámina propia donde interacciona con proteínas de la matriz extracelular (colágeno, laminina y fibronectina) las cuales también expresan moléculas de adhesión.

En la fase 1 y 2 actúan las SELECTINAS. En las fases 3 y 4 la SUPERFAMILIA de la INMUNOGLOBULINAS. Las últimas en actuar son las INTEGRINAS que lo hacen en la fase 5. Gracias a todos estos procesos descritos, el eosinófilo llega a la matriz germinal donde segrega todas las sustancias citotóxicas, las cuales son causantes de la patología alérgica.

La determinación del número total de eosinófilos en sangre, solo da una idea transitoria ya que donde pasan más tiempo es en los tejidos. El grado de eosinofilia nos da información dependiendo del número de tejidos afectados y de la severidad de la inflamación.

1.4.4-Clasificación de las moléculas de adhesión:

Las familias que más frecuentemente intervienen en los procesos inflamatorios y en especial del asma bronquial:

Introducción

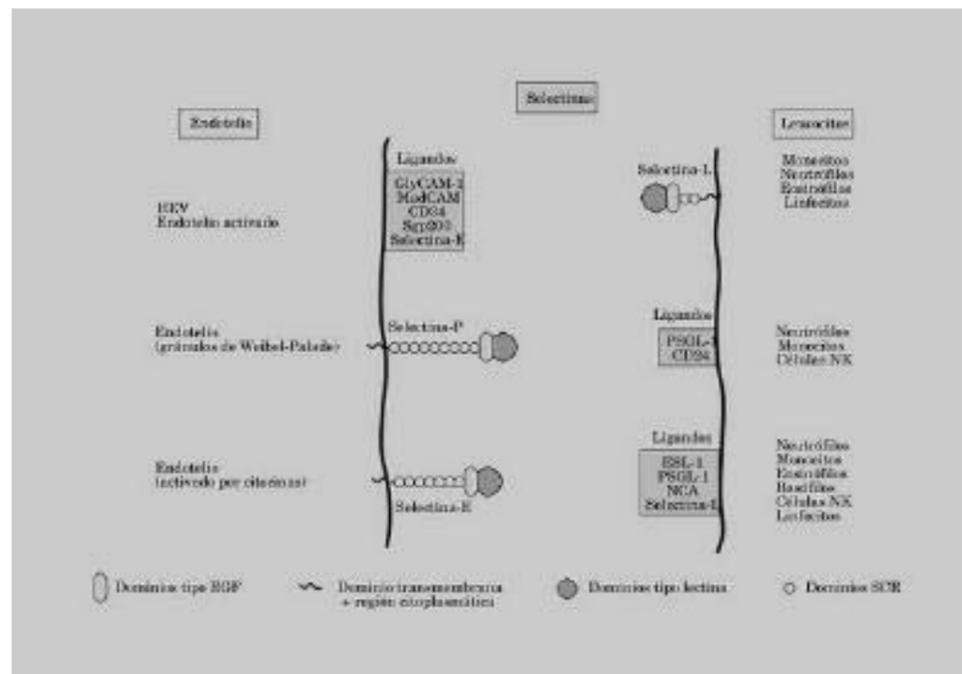


Figura 5 Selectinas. Representación de las selectinas, estructura y ligandos con atención a los tipos celulares que los expresan y las condiciones que condicionan su expresión. (37)

2-SUPERFAMILIA DE LAS INMUNOGLOBULINAS: todas son expresadas en el endotelio vascular. Actúan posterior y más prolongadamente que las selectinas. Los ligandos para las integrinas pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas entre ellas la subfamilia de los ICAM, VCAM (vascular cell adhesion molecule), MadCCAM-1, PECAM-1.

- ICAM-1: (molécula de adhesión intercelular-1)
- ICAM-2: (molécula de adhesión intercelular 2)
- VCAM-1: (molécula de adhesión vascular-celular 1) se expresa principalmente en células endoteliales y células dendríticas, y es inducible por citocinas. Su papel se relaciona con la activación del linfocito por células presentadoras de antígeno.

3-INTEGRINAS: intervienen en la adhesión entre leucocitos y células endoteliales y entre leucocitos y la matriz extracelular. La transición sucesiva entre la forma activa e inactiva de estas moléculas es clave para que a continuación se inicie el movimiento migratorio.

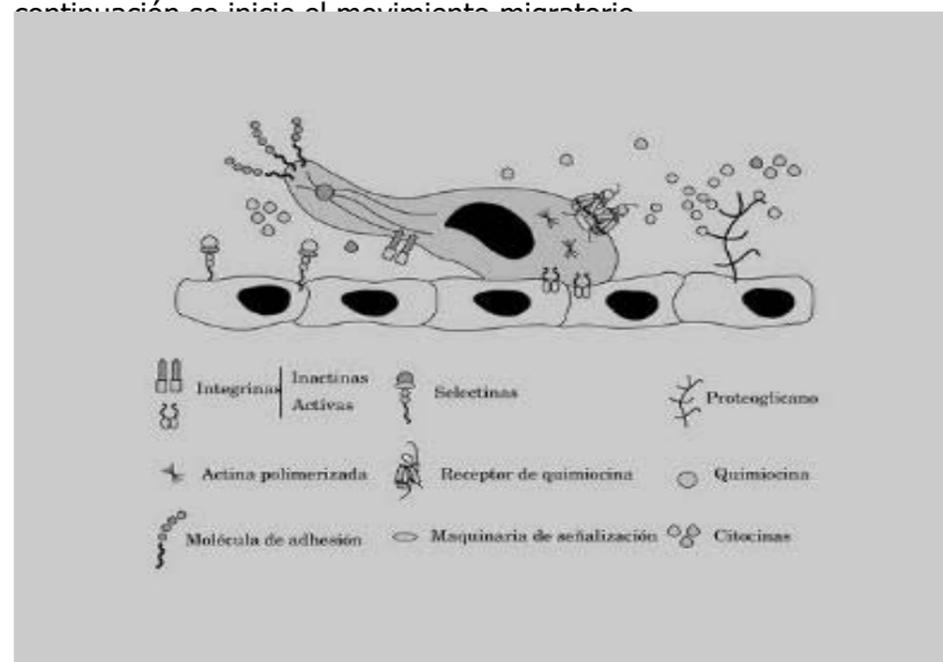
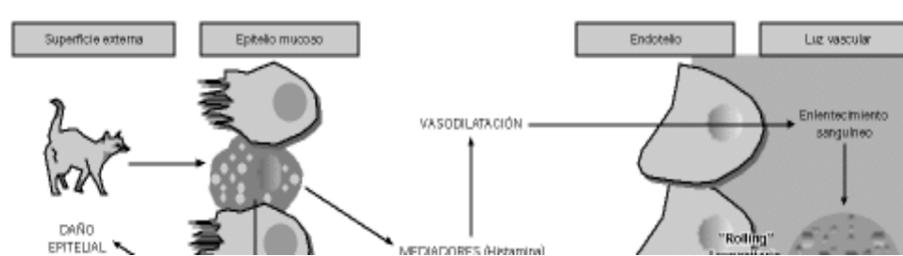


Figura 6 Representación esquemática de la polarización celular. Se muestra el fenotipo polarizado que adoptan los leucocitos que migran, así como la distribución que adoptan los receptores de quimiocinas, las integrinas y las moléculas de adhesión.



Introducción

1.4.5- Moléculas de adhesión implicadas en el desarrollo de la inflamación bronquial en los pulmones de pacientes asmáticos. **Tabla II**

Familia	Receptor	Ligando	Distribución
Superfamilia de las Igs	ICAM-1 VCAM-1	VLA-4	Endotelio
Selectinas	L-selectina	Sle	Endotelio

Inflamación en el asma bronquial (Fig 7):

La reacción inflamatoria del asma consta de tres procesos secuenciales:

1- **Fase de reconocimiento-activación:** en ella las células TH1 CD4+ y a veces las células T CD8+ reconocen a los antígenos proteicos ajenos presentados en la superficie de las células presentadoras de antígenos (APC) y responden con la producción de citocinas. Esta es una respuesta de memoria delante de un antígeno con el que previamente se había contactado.

2- **Fase de inflamación:** en la que las células del endotelio vascular activadas por las citocinas estimulan la llegada de linfocitos circulantes hacia los tejidos implicados. En esta es donde actúan las moléculas de adhesión.

3- **Fase de resolución:** en la que los macrófagos activados por las citocinas eliminan el antígeno. Este proceso se puede acompañar de lesión tisular.

La fase de inflamación donde actúan las moléculas de adhesión: Una vez se ha reconocido el antígeno y se han activado las células T, estas secretan citocinas (factor de necrosis tumoral, TNF) que alteran las células endoteliales de la microvasculatura local de forma que atraen leucocitos circulantes hacia la reacción inflamatoria. Estas células del endotelio microvascular realizan cuatro funciones que contribuyen a la inflamación:

48

Introducción

1-Vasodilatación: mediante la producción de sustancias vasodilatadoras como prostaciclina y óxido nítrico (NO), las células endoteliales provocan un aumento del flujo sanguíneo local y favorecen el transporte de leucocitos hacia el foco inflamatorio.

47

~~2-Adhesión leucocitaria: la expresión de nuevas proteínas de superficie o el aumento de los niveles de algunas de ellas permiten que las células del endotelio venular postcapilar se tornen adherentes a los leucocitos. En este estado de adhesión, al encontrarse un leucocito circulante con una célula endotelial venular, se producirá un aumento del tiempo de permanencia de los leucocitos en la superficie venular lo cual incrementa la probabilidad de extravasación.~~

Se han caracterizado tres moléculas de adhesión inducidas por citocinas que han demostrado ser importantes en el desarrollo de la inflamación desencadenada por el antígeno.

La E-selectina es la primera que aparece y tiene su inicio de acción en una o dos horas. En las vénulas de los tejidos, la E-selectina favorece la unión inicial de los leucocitos con la célula endotelial en la que es expresada. En las zonas de flujo sanguíneo, estas interacciones pueden dar lugar al movimiento en sentido rotatorio del leucocito por la superficie endotelial.

Poco tiempo después aparece **la VCAM- 1** (inicio de acción a las 6 a 12h) que interviene en la unión inicial de las células T de memoria y otros leucocitos los cuales expresan la molécula de adhesión perteneciente a la familia de las integrinas y llamada VLA-4.

La regulación positiva de la E-selectina, seguida por la VCAM-1 en la superficie de la célula endotelial, conduce secuencialmente a la adhesión, primero de los neutrófilos y después de los linfocitos y monocitos en respuesta al estímulo antigénico.

Introducción

4. Extravasación del plasma: las citocinas inducen cambios morfológicos en las células endoteliales y remodelan la membrana basal favoreciendo la extravasación de macromoléculas y de células T. A las 24h, las células endoteliales reorganizan sus moléculas de adhesión y las concentran en las uniones intercelulares.

La interrelación entre las moléculas de adhesión y las quimiocinas conduce así a la reacción inflamatoria en el asma bronquial siguiendo unas fases correlativas en el tiempo:

1-Adhesión inicial laxa de los leucocitos al endotelio vascular, activada por los contactos a por las citocinas, mediante las selectinas. En la microvasculatura, la fuerza del flujo empuja a los leucocitos adheridos, provocando la desaparición de las interacciones selectina-ligando las cuales vuelven a formarse rápidamente en sentido descendente a medida que los leucocitos se van moviendo. El resultado es el "rodamiento" del leucocito esférico a lo largo de la superficie del endotelio. Otras moléculas de adhesión activan también este rodamiento.

2-A medida que el leucocito va rodando por la superficie de las células endoteliales, es activado mediante las citocinas y alguna molécula de adhesión. El leucocito activado reordena su citoesqueleto y pasa a ser esférico a tener una forma aplanada, aumentando la afinidad de sus integrinas por los ligandos endoteliales y volviéndose móvil.

3-Este leucocito activado se adhiere firmemente a la superficie endotelial gracias a sus integrinas de alta afinidad (LFA-1, Mac-1 en neutrofilos y monocitos y VLA-4 en otros leucocitos).

4- En las uniones interendoteliales por los leucocitos reciben más señales (seguramente por parte de PECAM-1) que disparan su trasmigración.

5- Una vez en los tejidos el leucocito repta, gracias a sus integrinas, por la matriz de fibrina que se forma a partir de las proteínas extravasadas del plasma.

50

Introducción

Estos leucocitos pueden morir en unos días (característico de los neutrófilos), pueden activarse (propio de las células T y de los monocitos) o pueden salir por los vasos linfáticos. Los monocitos activados que se localizan en los tejidos extravasculares se diferencian a macrófagos que son las células efectoras finales de la reacción inflamatoria. Los macrófagos eliminan a los antígenos lo cual lleva a la resolución de la inflamación.

Las moléculas de adhesión pueden ser detectadas en biopsia de tejidos bronquiales y afectados, el líquido de lavado broncoalveolar y en esputo inducido. También pueden circular en sangre de forma soluble. La determinación de estas moléculas puede hacerse por ELISA o por citometría de flujo usando anticuerpos monoclonales.

El valor de estas moléculas solubles para el conocimiento del estado de la inflamación bronquial es todavía poco conocido. Aunque la presencia de las moléculas de adhesión circulantes probablemente refleja activación celular en el seno de la reacción inflamatoria, su función no está clara. ⁽³⁸⁾

HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

II. - HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO

51

En la reacción inflamatoria los linfocitos T4 o helper juegan un papel regulador. Las células TH0 pueden subdividirse en dos tipos basándose en la producción de citocinas por cada subtipo: TH1 y TH2. Las TH1 están implicadas en la respuesta frente a las infecciones y en la hipersensibilidad retardada y las TH2 son responsables de la respuesta inflamatoria en la enfermedad atópica. ^(39,40) Las citocinas producidas por los TH1 son la IL-2 y el IFN- γ , en cambio las TH2 producen IL-4, IL-5. El balance entre las células TH1 y TH2 está mantenido por una inhibición mutua. El IFN- γ inhibe la actividad de las TH2 en cambio la IL-4 inhibe la actividad de las células TH1. La IL-4 induce la producción de Ig E por los linfocitos B y también juega un papel importante en la activación de los mastocitos. El IFN- γ es un potente inhibidor de la síntesis de Ig E (Fig 8). ^(41,42,43,44,45,46,47,49)

Hay evidencias que en la interfase materno-fetal hay un predominio de células TH2. Un retraso en la maduración postnatal del sistema inmune puede ser un importante factor de riesgo para el desarrollo de atopia en individuos con elevado riesgo genético. Según el estudio de Joshi et al, la infección en los primeros meses de vida por el VRS puede ser uno de los factores que perpetúan la respuesta de las citocinas de las TH2 en individuos susceptibles. ^(44,48)

La principal citocina relacionada con la enfermedad alérgica es la IL-4, con la que los linfocitos B, inician la producción de Ig G1 y Ig E.

Por otro lado los mastocitos y los eosinófilos son unas células efectoras importantes en la patogénesis de la inflamación del asma dado que segregan productos que pueden lesionar el epitelio respiratorio. ⁽¹⁵⁾

Hipótesis de trabajo y objetivos

El virus respiratorio sincitial tiene una capacidad inusual para activar las células Th2 probablemente debida a la presencia de una glucoproteína- G en la superficie del virus. ^(41,43)

Por ello nuestra hipótesis pretende demostrar que al activar el VRS la vía de los linfocitos TH2 aumentará la producción de IL-4, Ig E total y específica en los niños que presenten asma del lactante, después de la bronquiolitis VRS+.

Los mastocitos y los eosinófilos son unas células efectoras importantes en la patogénesis de la inflamación del asma dado que segregan productos que pueden lesionar el epitelio respiratorio.

El asma es una enfermedad inflamatoria. La infiltración de los leucocitos es el principal suceso de la patogénesis del asma. El reclutamiento de los leucocitos desde la circulación sanguínea hacia los tejidos afectados depende de una serie de moléculas de adhesión, las cuales median la interacción entre el endotelio vascular y los leucocitos.

Las selectinas (E-selectina, **L- selectina** y P-selectina) y sus ligandos carbohidratos median la captura inicial y la adhesión de los leucocitos. Sin embargo la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y la molécula de adhesión de células vasculares, ambas forman parte de la superfamilia de la inmunoglobulina, y sus ligandos contribuyen a la migración transendotelial y a la adhesión firme.

La expresión y función de las moléculas de adhesión celular son moduladas por unos mediadores de la inflamación: ej. la histamina, factor de activación de las plaquetas, leucotrienos, y diferentes citocinas y factores de crecimiento. La concentración en suero del soluble ICAM-1, soluble VCAM-1, y soluble E-selectina esta aumentada en adultos con asma.

El virus VRS induce la expresión de ICAM-1 por las células del epitelio respiratorio in vitro, y favorece la adhesión de los neutrofilos y los eosinófilos a las células del epitelio respiratorio en cultivo, mediante un mecanismo dependiente de la ICAM-1. El papel de las moléculas de adhesión en la respuesta inflamatoria de la bronquiolitis, fase aguda de la infección VRS, parece ser determinante. ⁽³⁵⁾

Hipótesis de trabajo y objetivos

Así en los niños que presenten alergia a pneumoalergenos, a fármacos o a alimentos esperamos encontrar unos niveles altos de IL-4 lo que traducirá un aumento de linfocitos Th2 y unos niveles disminuidos de interferón gamma, Así como una elevación (al potenciarse la producción de linfocitos Th2) de la producción de IL-5, la cual estimula a los eosinófilos la producción de la proteína catiónica eosinófila.

En resumen las hipótesis de trabajo son:

1-Estimulación de la proteína G del VRS sobre los linfocitos TH2 dando lugar a un aumento de la Ig E y aparición de enfermedad alérgica (Figura 8).

2-Inflamación alérgica de las vías respiratorias (bronquios) que se producen en las reacciones alérgicas mediadas por Ig E, y que se pueden poner de manifiesto por el aumento de las moléculas de adhesión: VCAM-1 y L-selectina. (Figura 9)

HIPÓTESIS DE TRABAJO

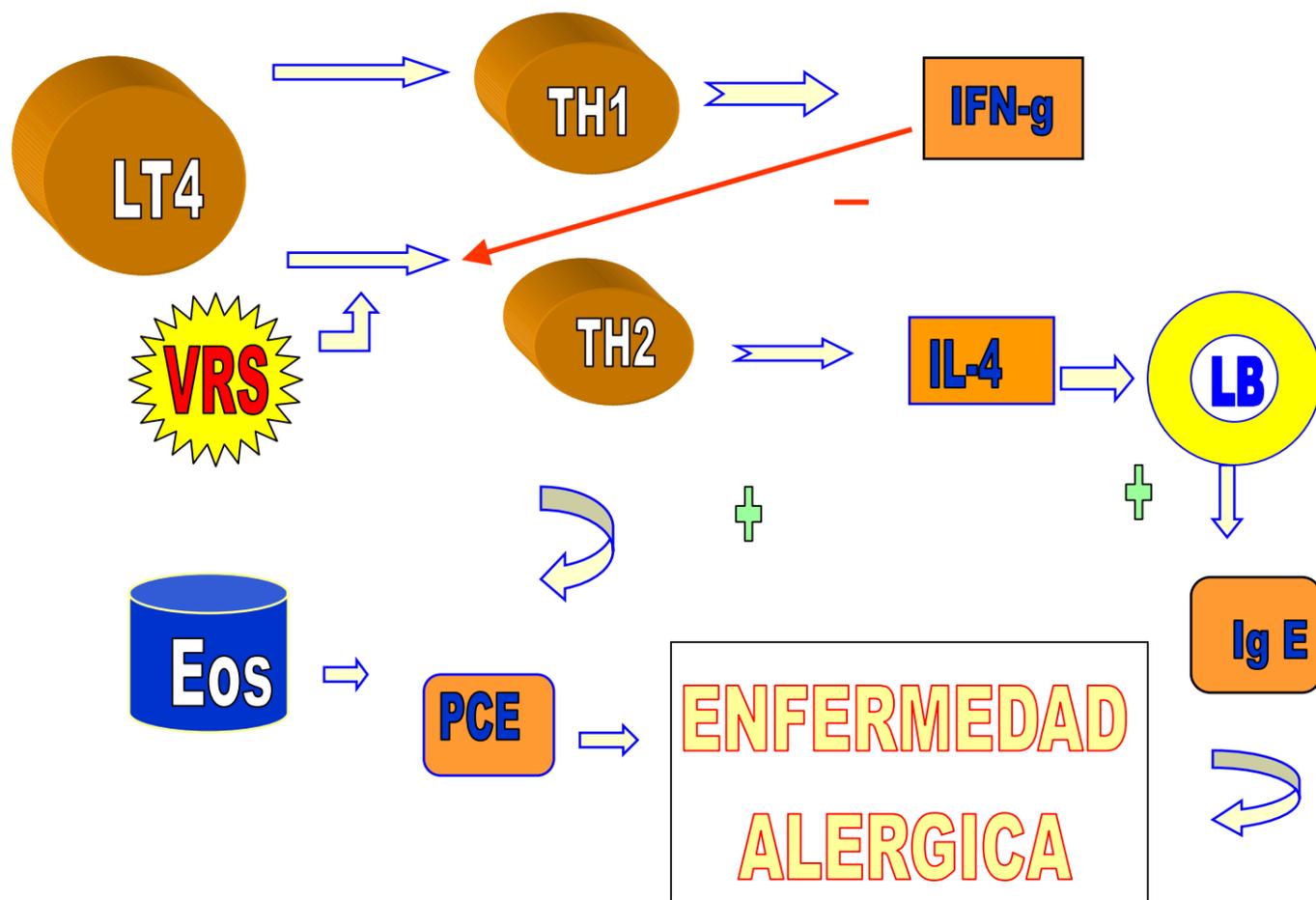


Figura 8 Hipótesis de trabajo: Acción del VRS sobre los linfocitos

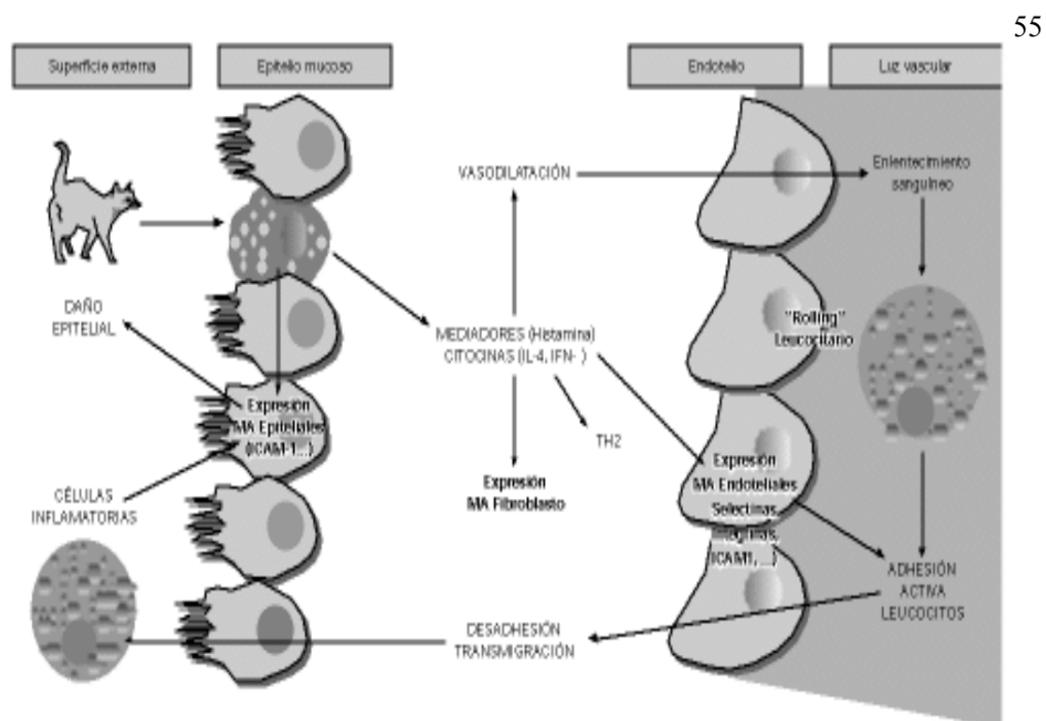


Figura 9 Inflamación alérgica mediada por Ig E sobre las vías respiratorias; moléculas de adhesión VCAM-1 y s-Lselectina. ⁽³⁶⁾

Hipótesis de trabajo y objetivos

2.2 OBJETIVO DEL ESTUDIO:

Propósito: estudio prospectivo de un grupo de pacientes afectados de bronquiolitis por VRS para evaluar las modificaciones de la inmunidad que inducen la aparición de asma.

Los objetivos del proyecto son:

Objetivo general es establecer la relación entre la infección por el virus respiratorio sincitial y las modificaciones de la inmunidad que conducen a la aparición de asma infantil.

Para conseguir este objetivo, se plantean los siguientes *objetivos específicos*

- 1.- Analizar la evolución clínica y la aparición de asma infantil, de niños menores de 2 años que han padecido bronquiolitis por VRS desde los 8 días de vida hasta los 7 meses.
- 2.- Comprobar si los antecedentes familiares de atopia han influido como factor desencadenante de aparición de asma.
- 3- Detectar las alteraciones de la inmunidad en los niños con bronquiolitis por VRS, que conducen a la aparición de enfermedad alérgica (asma):
 - 3.1 Poblaciones linfocitarias, LT; LB; LT4, LT8.
 - 3.2- Inmunoglobulinas G, A, M
 - 3.3- Interleucina 4 (IL-4) e Interferón gamma (INF - γ)
- 4.- Detectar que marcadores son útiles en los niños en que aparece asma post bronquiolitis para diagnosticar la enfermedad alérgica precoz: Ig E total, ECP, sVCAM-1, sL-Selectina.
- 5.- En los niños en los que se detecte la aparición de asma con Ig E elevada, estudiar la sensibilización precoz a pneumoalergenos y alimentos: mediante Ig E específica (método de CAP) y Prick Test.

Material y Métodos

3-1. POBLACION DE ESTUDIO.

Esta tesis es el fruto de un seguimiento prospectivo realizado en la Sección de Inmunoalérgia del Hospital Universitario Sant Joan de Déu de Barcelona, este Hospital es centro de referencia del área del Baix Llobregat.

Pacientes: dos grupos de estudio

3.1.1. NIÑOS CON BRONQUIOLITIS. (Grupo A)

El grupo de niños problema estaba formado inicialmente por 65 niños (edad media 3 meses, 1 día a 7 meses) que ingresaron en este Hospital por su primer episodio de bronquiolitis VRS positivo, desde diciembre de 1997 hasta febrero de 1998.

Durante su ingreso se informaba a la familia de la existencia de este estudio y se les proponía la participación en el mismo. De estos, 50 niños completaron el seguimiento durante 2 años. El seguimiento se realizaba en el servicio de Inmunoalérgia, donde acudían a control clínico cada 3-4 meses y control analítico cada 6 meses, durante 2 años.

En los controles clínicos se realizaba una anamnesis y exploración física y se anotaban los procesos de bronquitis disneizante que había padecido desde la última visita. En los análisis que se realizaban en el momento de ingreso, a los 6,12 y 18 meses se solicitaba un hemograma, Inmunoglobulinas G, M, A, E, Poblaciones linfocitarias, proteína cationica eosinófila, interleucina 4, interferon gamma. A los 18 meses se solicitaron las moléculas de adhesión: sVCAM.1, sL selectina (Figura 10).

En los niños que presentaban una elevación de la Ig E total se les realizaba un Prick test a leche, huevo y pneumoalergenos, además de una Ig E específica.

3.1.1. a. Criterios de inclusión.

Niños de varios días a 7 meses de edad diagnosticados de bronquiolitis por el virus respiratorio sincitial.

60

3.1.1. b. Criterios de exclusión.

- Niños afectos de inmunodeficiencia o prematuridad.
- Niños que no acudirían al seguimiento.
- Niños con enfermedades crónicas respiratorias ya diagnosticadas tanto de origen genético (fibrosis quística de páncreas) como por alteración anatómica pulmonar.
- Niños con otras enfermedades crónicas (cardiopatías, diabetes, etc.)

59



Figura 10 Esquema del grupo de estudio (niños con bronquiolitis). Grupo A

3.1.2. NIÑOS SANOS (Grupo B)

61

El segundo grupo, estaba formado por 80 niños, los cuales se subdividían en 4 grupos de 20 según las edades: 20 niños de 1 a 8 semanas, otros 20 que tenían entre 5 a 7 meses, otros 20 de 10 a 14 y el último de 20 niños 16 a 20 meses de edad.

Ninguno de ellos tenían antecedentes familiares o personales de atopia, ni clínica de bronquiolitis o enfermedades importantes. Estos niños tenían programada una extracción analítica por otro motivo (la mayoría eran análisis preoperatorios), solicitando permiso a la familia se determinaba en sangre la interleucina 4, el interferón- γ y las moléculas de adhesión. Este segundo grupo permitirá calcular los valores de referencia en suero de estas cuatro moléculas. Por ello solo se les realiza una determinación puntual y no se hacía un seguimiento de estos niños.

Son cuatro grupos de 20 niños, los tres primeros están formados por niños de 1-8 semanas, 5-7 meses y 10-14 meses, en ellos se determinaba en sangre la interleucina 4 y el interferon gamma, mientras que en el grupo de los niños de 16-20 meses se median además las moléculas de adhesión (s VCAM-1, sL-selectina). Figura 11

3.1.2. a. Criterios de inclusión.

- Todo niño que estuviera entre las edades antes mencionadas y que tuviera programada una extracción analítica.

- No tener antecedentes personales ni familiares de atopia

3.1.2. b. Criterios de exclusión.

GRUPO B

Grupo para calcular valores de referencia

No seguimiento clínico

80 niños sanos

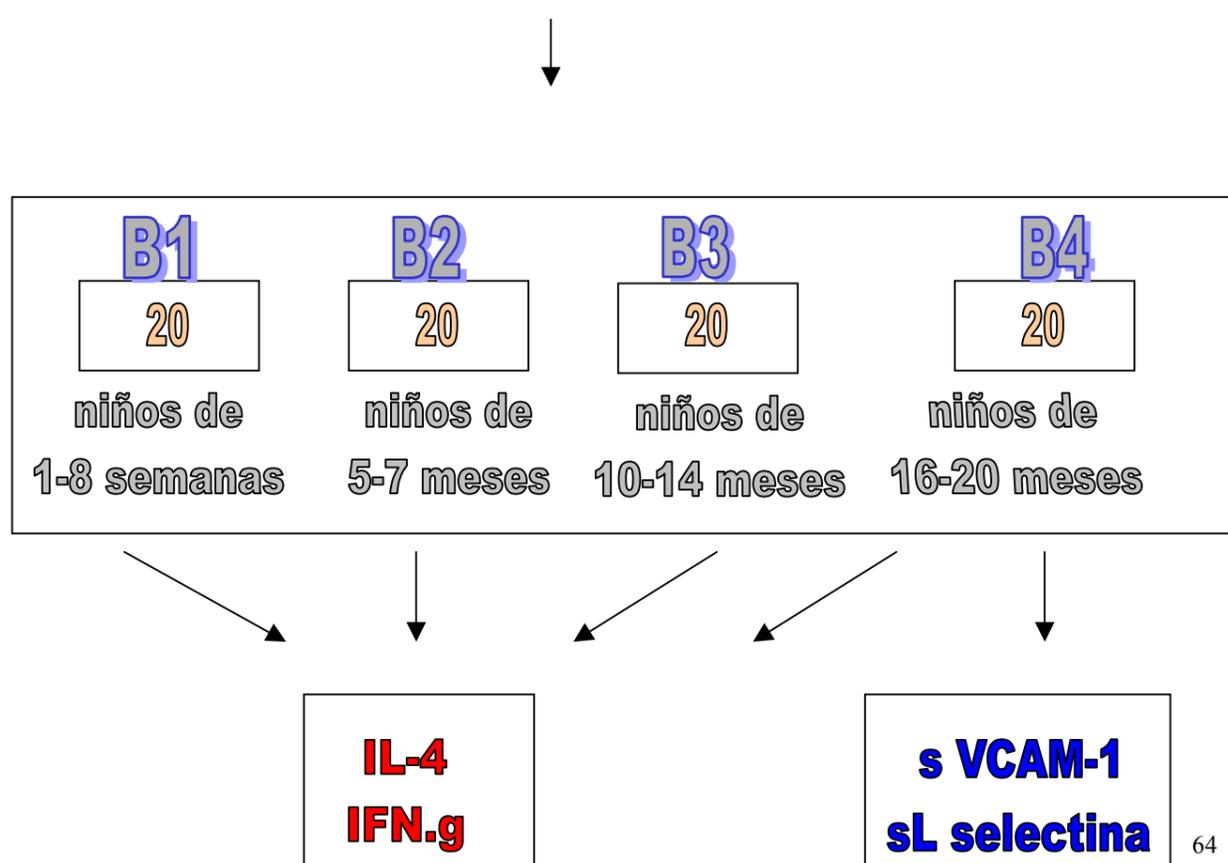


Fig. METODO Grupo B (niños sanos de referencia de 1 semana a 20 meses)

3.2.1. Seguimiento clínico: la ficha

Para la recogida de datos en estos niños se utilizó una ficha, en donde se especificaban los antecedentes familiares de alergia respiratoria (rinitis o asma) a fármacos o dermatitis atópica y los personales (sí había presentado previamente síntomas compatibles con sibilancias o asma).

Las características del ingreso por bronquiolitis, gravedad, tratamiento realizado, sobreinfección bacteriana, evolución. Además en cada visita de control se preguntaba a los padres si durante los últimos meses había presentado algún proceso de bronquitis disneizante o cualquier otra sintomatología de enfermedad atópica como eczema (diagnosticadas por un médico) gravedad de los episodios, duración y tratamientos realizados.

También se valoró el desarrollo psicomotor, el estado de inmunización (calendario vacunas), si había alguna intolerancia con los diferentes alimentos introducidos y si acudían o no a guardería. Se dejaba constancia de la exploración física en el momento de la visita y si estaba o no tomando medicación como broncodilatadores, corticoides o antihistamínicos. (Anexo.1)

Se realizaba un seguimiento clínico (anamnesis y exploración física) cada 3 ó 4 meses, anotando los datos en la ficha, hasta los 2 años de edad.

El concepto clínico del **Asma infantil**: en el presente estudio se define como la presentación de 3 o más episodios de obstrucción bronquial antes de los 2 años de edad y/o una historia de hiperreactividad bronquial, fuera de los periodos de sobreinfección respiratoria.

Para establecer el **diagnóstico de asma** en nuestro grupo de pacientes menores de 2 años se utilizaron los siguientes datos:

3.2.2. METODOLOGIA ANALITICA

3.2.2. a. Pruebas in vitro:

1.- Estudio etiológico de la infección viral respiratoria (bronquiolitis)

para los siguientes virus

- Virus respiratorio sincitial, mediante inmunofluorescencia directa (IFD).
- Adenovirus, influenza A y B y parainfluenza 3 mediante inmunofluorescencia directa (IFD)

Esta determinación viral se realizaba en los lactantes que acudían a urgencias con clínica de bronquiolitis. Se tomaba muestra de las secreciones naso-faríngeas, en el box de exploración, mediante succión con catéter en la nasofaringe.

VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL: identificación del VRS por inmunofluorescencia directa (IFD) sobre la muestra. La IF permite visualizar el antígeno en las células epiteliales de las secreciones respiratorias, mediante un anticuerpo monoclonal marcado con fluoresceína. El anticuerpo específico de la sub-unidad F1 de la proteína de fusión no sujeta a variaciones antigénicas, reconoce todas las variantes del VRS. El reactivo utilizado fue RSV Direct IF Identification. Bio Merieux Ref 55 341.

Toma de la muestra:

Se recogían las secreciones nasofaríngeas por medio de una sonda y se remitían rápidamente al laboratorio (Foto 1,2). La muestra tenía que ser rica en células epiteliales procedentes del lugar de la infección.



Foto 1: recogida de las secreciones nasofaríngeas por medio de una sonda de aspirado nasal

Lavado de las células: las secreciones se ponían en suspensión en 2 o 3 ml de PBS (Phosphate buffered saline). Se homogeneizaba, mediante aspiración y espiración con una pipeta. Posteriormente se centrifugaba durante 10 minutos a 380g v se volvía a repetir hasta la total eliminación de las mucosidades.

Material y métodos



Foto 2: secreciones nasales y suero fisiológico en un receptor estéril

El sedimento celular se diluía con el tampón PBS hasta obtener una suspensión celular ligeramente turbia. Se cogía 30ul de la suspensión y se colocaban en un porta. Se fijaba la muestra con acetona en el círculo. Se dejaba secar al aire y se escribía en el porta el nombre del paciente.

Posteriormente se pasaba a la tinción: Se ponía una gota del reactivo 1 (conjugado FITC anti- RSV, anticuerpo monoclonal, murino, contra colorante incluido) en cada círculo de control y en cada muestra, intentando que cubriese toda la superficie del círculo. Se incubaba a temperatura ambiente durante 15 minutos en una cámara húmeda. Se lavaban los portas en PBS 2 veces 5 minutos. Se aplicaba una suave agitación magnética. Después se añadía una gota del reactivo 3 (medio de montaje para IF) en cada círculo y se cubrían con un porta. Se dejaba secar y se pasaba a mirar al microscopio de fluorescencia.

68

Material y métodos

Lectura: con un objetivo de 40, se leía el porta de control se consideraba círculo (-) sin fluorescencia, solo hay presencia de células rojizas, círculo (+) células que presentan una fluorescencia intra-citoplasmática de tipo granular homogéneo, entre otras células rojizas no infectadas. Se pasaba a leer el porta con las muestras. Se interpretaba como positivo si había por lo menos 1 células fluorescente característica: fluorescencia granular intra-citoplasmática.

Se consideraba negativa si no había ninguna célula fluorescente, entre por lo menos 50 células en el círculo. Era considerado ininterpretable si en una muestra en la que no había ninguna célula fluorescente y menos de 50 células por círculo.

Una vez diagnosticadas de bronquiolitis VRS positivo se les planteaba iniciar el estudio.

Los niños con bronquiolitis VRS positivo se realizaba la primera determinación para estudiar la inmunidad humoral y celular durante su ingreso y las siguientes determinaciones a los 6 meses, al año y 18 meses de edad.

Así mismo también se determinaban en las secreciones nasofaríngeas otros virus: Adenovirus, Influenza A y B, Parainfluenza 3, se utilizaba el reactivo IMAGEN Adenovirus DAKO 6100, IMAGEN Influenza A y B, DAKO K6105-11 y Anti Para influenza tipe 3 Ig G Ingelghein Diagnostica J1-365L. La técnica de inmunofluorescencia directa es la misma que para el virus VRS.

2.- Estudio de la inmunidad humoral y celular de los niños del estudio:

- Hemograma: eosinofilia
- inmunoglobulinas totales, Ig E total y específica.
- poblaciones linfocitarias: LT, LB, LT4, LT8
- Citoquinas: interferón- γ e interleucina 4
- Proteína catiónica eosinófila

Material y métodos

Inmunoglobulina E total:

Para la determinación cuantitativa de la Ig E total en suero humano se utilizó la inmunonefelometría con partículas intensificadoras usando los sistemas nefelométricos de Dade Behring. (Nefelómetro Behring BN II)

La nefelometría se define como la medida de la luz dispersada o reflejada hacia un detector que no está en la misma dirección que el haz de luz incidente. La mayoría de nefelómetros miden la luz dispersada en un ángulo de 90°. ⁽⁵⁰⁾

Fundamento del método: Las partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos contra la Ig E humana se aglutinan al mezclarse con las muestras que contienen Ig E humana. La intensidad de la luz dispersada en el nefelómetro depende de la concentración de Ig E en la muestra, de tal forma, que por comparación con diluciones de un patrón de concentración conocida, es posible determinar la cantidad de Ig E existente en la muestra.

El reactivo utilizado fue N Reactivo Látex Ig E mono (Dade Behring) que está formado por una suspensión de partículas de poliestireno, las cuales están recubiertas con anticuerpos monoclonales, ratón, contra la Ig E humana. La concentración de partículas de poliestireno, esta óptimamente graduadas para la medida de la aglutinación con los sistemas nefelométricos.

Preparación de los reactivos: Se pipeteaba 2,0 ml de N Reactivo adicional L/B (solución salina tamponada y detergente) en una botella del N Reactivo adicional L/A(contiene inmunoglobulinas de ratón en solución tamponada) y se mezclaban con agitación suave.

Preparación de la curva de referencia: La concentración de Ig E humana en el N proteína estándar SY se debe tomar en la tabla de valores. El nefelómetro prepara automáticamente las diluciones necesarias del estándar con el N Diluyente

Medida de las muestras de pacientes: Las muestras del grupo de estudio eran automáticamente diluidas 1:20 con N Diluyente y eran medidas en las 4 horas posteriores.

70

Material y métodos

El procedimiento operativo era: Sacar los reactivos de la nevera y colocarlos en el rack de reactivos con la etiqueta de código de barras correcta, para que la pueda leer el BN II.

Comprobar que el analizador esté calibrado para la determinación de Ig E para el nº de lote de reactivo que vamos a utilizar.

Poner la botella de control y seleccionar la determinación.

Comprobar que los resultados obtenidos de los materiales de control de la calidad hayan sido correctos.

Poner las muestras identificadas con su código de barras.

La concentración de Ig E en sueros de personas clínicamente sanas muestra un rango muy disperso y no sigue ninguna distribución normal. La concentración de Ig E en el suero de niños es altamente dependiente de la edad.

Valores de referencia para Ig E en suero:

- Lactante en el primer año de vida 0,3 - 17 KUI/L
- Niños (1-2 años) < 43 KUI/L

Características del método de análisis: para una dilución de la muestra 1:20, el rango de medida para la determinación en el N Látex Ig E mono está comprendido entre 18 y 1150 KUI/l.

Límite de detección: 4 KUI/L para una dilución de las muestras 1:5

La determinación de La Ig E total tiene un valor predictivo para el desarrollo de enfermedad atópica. Pueden hallarse niveles elevados meses antes de que se manifieste la clínica.

Material y métodos

Inmunoglobulinas G, A, M:

Los resultados se expresan en mg/L y no hay diferencias por sexos.

Ig G : Rango de referencia:

Edad	Ig G	Edad	Ig G
1-2 día	6670-17200	4-5 meses	1600-8610
2-30 días	2470-9610	5-6 meses	2070-7410
1-2 meses	1970-6280	6-9 meses	2090-9590
2-3 meses	1650-6070	9-12 meses	2930-11300
3-4 meses	1870-5820	1-2 años	4350- 11200

Margen de medición: 1400-46000 mg/l

Ig A:

Edad	Ig A	Edad	Ig A
1-2 día	52-72	4-5 meses	114-820
2-30 días	51-532	5-6 meses	114-671
1-2 meses	65-476	6-9 meses	141-876
2-3 meses	82-467	9-12	169-1020
3-4 meses	80-718	1-2 años	169-1180

Margen de medición: 60-8000 mg/L

IgM:

Edad	Ig M	Edad	Ig M
1-2 día	47-226	4-5 meses	302-1010
2-30 días	178-819	5-6 meses	322-962
1-2 meses	149-991	6-9 meses	312-1190
2-3 meses	216-838	9-12 meses	379-1410
3-4 meses	245-953	1-2 años	446-1590

Margen de medición: 250-8000 mg/l

Ig E específica: Para la determinación cuantitativa de la Ig E específica en suero humano se utilizó la técnica de ~~fluoroenzymoinmunoensayo de la casa~~ Pharmacia Uni CAP Specific Ig E.

71

El fundamento de la técnica es: los alérgenos de interés unidos covalentemente al inmunoCAP, reaccionan con la Ig E específica del suero del paciente. Después de un primer lavado la Ig E no específica es eliminada, añadimos un enzima marcado con anticuerpos anti Ig E formando un complejo. Después de la incubación el enzima anti Ig E no unido es eliminado mediante otro lavado y el complejo final es posteriormente incubado con la solución de desarrollo.

Después de parar la reacción se mide la fluorescencia del eluido. Medidas altas en la respuesta corresponden a valores altos de Ig E específica en el suero de la muestra. La evaluación de los resultados correspondientes a las muestras de los pacientes se comparaban directamente con la respuesta de los calibradores.

La sensibilidad: el límite de detección es < 0,35 KU/l

Poblaciones linfocitarias:

Valores normales:

LB	5-15%
LT	63-81%
LT4	35-53%
LT8	21-36%

La citometría de flujo es un método rápido, objetivo y cuantitativo de análisis de células, núcleos, cromosomas, mitocondrias y otras partículas en suspensión. El principio en que se basa es: hacer pasar células u otras partículas en suspensión, alineadas y de una en una por delante de un haz luminoso. La interacción de las células o de las partículas con el rayo luminoso genera señales que son leídas por los detectores adecuados.

Material y métodos

La sangre obtenida por punción venosa se colocaba en los tubos de vacutainer para la separación del suero. Las muestras eran congeladas a -20° C. Antes de su utilización se dejaban descongelar a temperatura ambiente.

El fundamento de esta técnica se basa en: anti-IL-4 o anti IFN gamma unida covalentemente a los micropocillos de la placa reaccionan con la IL-4 o IFN-gamma específica del suero del paciente. Después de un lavado, se añadía biotín conjugado formando un complejo. Después de la incubación el conjugado no unido a la biotina son eliminados mediante otro lavado y el complejo final ligado es incubado con la solución de desarrollo.

Después de finalizar la reacción se mide el producto coloreado formado (absorbancia). La lectura de la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de IL-4 o IFN gamma en el suero de la muestra.

Proteína cationica eosinófila

Para detectar la proteína cationica eosinófila, un marcador soluble de la inflamación alérgica, se utilizó la técnica de enzoinmunoensayo UniCAP Pharmacia, obteniendo los valores en ug/l. La sensibilidad del método: el límite de detección es < 2 ug/l. El rango de medida es de 2-200 ug/l. Los valores normales son $< 11,3$ ug/l.

La sangre obtenida por punción venosa se colocaba en los tubos de vacutainer para la separación del suero. Después de la recogida de la muestra se invertía 5 veces el tubo suavemente. Dejar que se libere ECP por coagulación durante 60-120 minutos a temperatura ambiente entre $20-24^{\circ}$ C. Centrifugar a 1000-1300 x g durante 10 minutos. Decantar el suero dentro de un nuevo tubo.

El fundamento de esta técnica se basa en: anti-ECP unida covalentemente a los inmunoCAP reacciona con la ECP específica del suero del paciente. Después de un lavado, se añadía enzima marcada con anticuerpos anti -ECP formando un complejo. Después de la incubación el complejo enzima-anti-ECP no unidos, son eliminados mediante otro lavado y el complejo final ligado es incubado con la solución de desarrollo.

Material y métodos

Después de finalizar la reacción se mide la fluorescencia del eluido. La fluorescencia es directamente proporcional a la concentración de ECP en el suero de la muestra.

Moléculas de adhesión:

73

SVCAM-1

La sVCAM-1 se realiza por técnica de ELISA (Bender Med Systems) permite la detección cuantitativa de las moléculas de adhesión a nivel vascular.

La técnica de ELISA para la sVCAM-1 es una técnica de enzimo inmunoanálisis para la detección cuantitativa de las moléculas de adhesión en el sobrenadante de suero humano.

Los principios de este test son: el anticuerpo monoclonal anti-sVCAM-1 está absorbido en los micro pocillos. Se añade la muestra y el VCAM -1 presente en la muestra o los estándares son absorbidos por los anticuerpos presente en los micropocillos (una mezcla de anticuerpos monoclonales anti sVCAM conjugados con biotina y mezclados con estreptavidina). La biotina conjugada con los anti sVCAM es capturada por los primeros anticuerpos. La Streptavidina- HRP se une a la biotina conjugada. Posteriormente se incuban y se lavan con una solución que se añade en los pocillos y que reacciona con la HRP. Se forma un producto coloreado en proporción a la cantidad de sVCAM-1 presente en la muestra. La reacción se termina cuando se añade un ácido y se mide la absorbancia a 450nm.

Se prepara una curva estándar con 6 sVCAM-1 estándares y se determina la concentración de sVCAM-1. Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

Protocolo: Diluir el suero 1:50 con Assay Buffer según la siguiente dilución: 10ul muestra+ 490 uL assay buffer.

La sensibilidad de método (límite bajo de detección) es de 0.9 ng/ml

Pruebas "in vivo":**Prick test**

Se realizaron pruebas cutáneas en los niños que presenten unos valores altos de Ig E total. El Prick test refleja la cantidad de anticuerpos Ig E. Se hizo a neuroalergenos más frecuentes en España, (gamineas, cereales, parietaria, artemisa, olivera, alternaria T, cladosporium, penicilium SPP, Aspergillus SPP, D. Pteronyssinus, D Farinae, legidoglyplys D, A Siro, Tyrophagus P, Epitelio de perro, epitelio de gato,) con controles negativo y positivo S. Fisiológico, histamina), con el Kit de laboratorios Aristegui, Al huevo (ovoalbumina y ovomucoide) y a proteínas de leche de vaca (leche de vaca, α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, caseína) con el Kit de laboratorios Leti, porque en esta edad es frecuente la sensibilización a estos alimentos.

3.3 TRANSFORMACIONES Y CÁLCULOS MATEMÁTICOS**3.3.1 CALENDARIO**

- 1.- Recogida de material y seguimiento durante 2 años.
 - 2.- Redacción definitiva 4 años.
- Total 6 años

3.3.2 ESTADÍSTICOS Y TEST DE COMPARACIÓN UTILIZADOS.**A-Media y desviación típica**

La media y la desviación típica de las variables estudiadas han sido estimadas mediante los estadísticos:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

y

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2} \quad 76$$

B-Test de comparación de medias (t-Student)

Se desea contrastar las siguientes hipótesis

$$H_0 : m_1 = m_2 \quad (\sigma \text{ desconocida y común})$$

$$H_1 : m_1 \neq m_2 \quad (\sigma \text{ desconocida y común})$$

75

con un nivel de significación ε , teniendo en cuenta que:

a) Hay X_1, \dots, X_{n_1} variables aleatorias (v.a.) independientes con distribución normal con media m_1 y desviación típica σ y Y_1, \dots, Y_{n_2} variables aleatorias independientes con distribución también normal de media m_2 y desviación típica también σ , y supongamos que ambos conjuntos de variables son también independientes entre sí.

b) Obtendremos que la variable aleatoria

$$t = \left[\frac{(\bar{X}_{n_1} - \bar{Y}_{n_2}) - (m_1 - m_2)}{\sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{(n_1 + n_2)(n_1 S_X^2 + n_2 S_Y^2)}}} \right]$$

sigue la distribución t de Student con $(n_1 + n_2 - 2)$ grados de libertad. Siendo \bar{X}_{n_1} la media de las variables aleatorias $X_i, i = 1, \dots, n_1$, de manera idéntica para \bar{Y}_{n_2} . La S_X^2 es la varianza de las variables aleatorias $X_i, i = 1, \dots, n_1$, y S_Y^2 es lo mismo pero, de la variable aleatoria $Y_i, i = 1, \dots, n_2$.

Si H_0 es cierta, dada las muestras $x_1, \dots, x_{n_1}, y_1, \dots, y_{n_2}$, como $m_1 - m_2 = 0$, el

Material y métodos

Luego el criterio de decisión es:

Si $|t| < t_\varepsilon$ se rechaza H_0 , siendo t_ε el punto a partir del cual tenemos en las tablas de la t-Student para $(n_1 + n_2 - 2)$ un área o probabilidad a la derecha de ε (nivel de significación). En caso contrario se acepta H_0 .

C-Prueba de independencia (ji-cuadrado)

Sea Ω una población que admite dos descomposiciones distintas en sucesos excluyentes

$$\Omega = A_1 + \dots + A_r = B_1 + \dots + B_s$$

Supongamos que se realizan n pruebas independientes, de modo que f_{ij} es la frecuencia del suceso $A_i \cap B_j$. Las observaciones se disponen en una tabla de frecuencias, llamada tabla de contingencia (rxs):

	B_1	B_2	\dots	B_s	
A_1	f_{11}	f_{12}	\dots	f_{1s}	$f_{1.}$
A_2	f_{21}	f_{22}	\dots	f_{2s}	$f_{2.}$
\dots	\dots	\dots	\dots	\dots	\dots
\dots	\dots	\dots	\dots	\dots	\dots
\dots	\dots	\dots	\dots	\dots	\dots
A_r	f_{r1}	f_{r2}	\dots	f_{rs}	$f_{r.}$
	$f_{.1}$	$f_{.2}$	\dots	$f_{.s}$	N

78

Material y métodos $f_{i.} = \sum_j f_{ij}$ es la frecuencia de A_i .

$$f_{.j} = \sum_i f_{ij} \text{ es la frecuencia de } B_j.$$

Consideremos la siguiente hipótesis nula, $H_0 : A_i$ es estadísticamente independiente de B_j , es decir,

$$P(A_i \supset B_j) = P(A_i)P(B_j)$$

La hipótesis alternativa es que hay dependencia estadística para al menos un par de sucesos a_i, b_j .

Si indicamos $p_{ij} = P(a_i \supset B_j)$, e introducimos los parámetros $p_{1.}, \dots, p_{r.}, p_{.1}, \dots, p_{.s}$, siendo

$$\sum_i p_{i.} = \sum_j p_{.j} = 1 \text{ la hipótesis nula es}$$

$$H_0 : p_{ij} = p_{i.} \times p_{.j}$$

Se demuestra que los estimadores máximos verosímiles de los parámetros son

$$\hat{p}_{i.} = \frac{f_{i.}}{n} \text{ y } \hat{p}_{.j} = \frac{f_{.j}}{n}$$

es decir, las frecuencias relativas de A_i y B_j . La frecuencia esperada $A_i \supset B_j$, bajo H_0 , es entonces

$$n \frac{f_{i.}}{n} \frac{f_{.j}}{n} = \frac{f_{i.} f_{.j}}{n}$$

Al final obtendremos el estadístico

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_{ij} - \frac{f_{i.} f_{.j}}{n})^2}{\frac{f_{i.} f_{.j}}{n}}$$

Material y métodos

Sea X_{ε}^2 el valor tabulado tal que

$$P(\chi_m^2 > \chi_{\varepsilon}^2) = \varepsilon$$

donde X_{ε}^2 es una ji-cuadrado con m grados de libertad.

Si χ^2 que obtenemos con nuestros datos es menor o igual que el valor calculado en las tablas para X_{ε}^2 , se acepta la H_0 sino, se rechaza esta hipótesis.

D- Regresión logística

Para extraer el posible efecto de tener hermano con enfermedad alérgica, padre fumador y tener gato, hemos realizado una regresión logística binaria, donde la variable dependiente es la probabilidad de padecer asma y las independientes: tener hermano con enfermedad alérgica, padre fumador y tener gato.

El modelo utilizado fue:

$$P(\text{Asma}) = \frac{e^{\alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3}}{1 + e^{\alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3}}$$

Para la realización de estos análisis se utilizó el programa estadístico SPSS.

Resultados

IV. – RESULTADOS

1. NIÑOS CON BRONQUIOLITIS (Grupo A)

1.1 SEXO:

La muestra de niños con bronquiolitis estaba formada por 65 niños, de los cuales 38 un (58,4%) eran niños y 27 niñas (41,5%). La bronquiolitis tiene una mayor incidencia en los niños.

Tabla 3. Evolución a asma infantil según el sexo

Sexo	Asma	Infantil	Nº total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
Niña	15	7 (31,8%)	22
Niño	13	15 (53%)	28
Total	28	22	50

P= 0,105

En la tabla 3 de los 22 niños que presentaron criterios de asma infantil en los 2 años de evolución, un 68,1% (n=15) eran niños y 31,8% (n=7) niñas, encontramos una mayor prevalencia de asma del lactante en varones, con una relación varón /mujer de (2,14:1), mientras que los que no presentaron asma la relación era de 1:1,15 aunque no se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos (p= 0,105). La relación varón/mujer ha sido mayor que en la mayoría de estudios.

1.2 EDAD DE INGRESO.

La edad media del grupo era de 76,4 días (8 días a 210 días). Edad media de los niños 77 días y la de las niñas 81 días. Como se muestra en la fig. 12 todos eran menores de un año (de 0 a 2 meses un 60 %, de 3 a 5 meses un 32 %, de 6 a 7 meses un 8%).

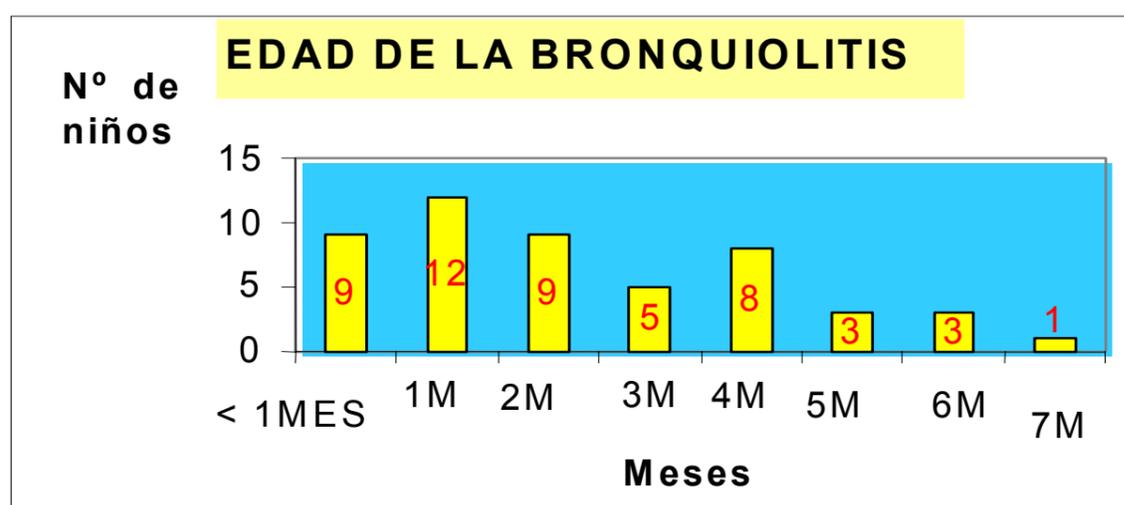


Figura 12: Distribución por edad en meses de los niños del estudio.

1.3 ANTECEDENTES FAMILIARES DE ATOPIA

El 46% de los niños de este grupo tenían antecedentes familiares de primer grado de atopia (rinitis, asma o eczema). Esta elevada incidencia es debida a que aceptaban entrar en este seguimiento aquellas familias que tenían algún familiar con atopia por lo cual estaban más sensibilizadas. En un 28% (14 niños) la madre tenía asma o rinitis o dermatitis atópica. El riesgo de asma es mayor cuanto más carga familiar hay, principalmente si están los 2 padres afectados, lo que en nuestro grupo es del 1,5 % (1 niño).

Tabla 4. FAMILIAR DE PRIMER GRADO CON ASMA (padre, madre o

Resultados

Tabla 5. FAMILIAR PRIMER GRADO CON RINITIS (padre, madre o hermano)

Familiar con rinitis	ASMA N°		N°Total de pacientes
	No	Si	
No	24	19 (44,1%)	43
Si	4	3 (42,8%)	7
Total	28	22	50

p= 0,638

Tabla 6.FAMILIAR PRIMER GRADO CON ECZEMA (padre, madre o hermano)

Familiar con eczema	ASMA N°		N° Total de Pacientes
	No	Si	
No	23	19 (45,2%)	42
Si	5	3 (37,5%)	8
Total	28	22	50

P=0,498

Tabla 7.PADRE CON PATOLOGIA ATOPICA (asma, rinitis o dermatitis)

Padre atopica	ASMA N°		N°Total de pacientes
	No	Si	
No	25	17 (40,4%)	42
Si	3	5 (62,5%)	8
Total	28	22	50

P= 0,223

Tabla 8. MADRE PATOLOGIA ATOPICA (asma, rinitis o dermatitis)

Madre atopica	ASMA N°		N° Total de pacientes
	No	Si	
No	20	16 (44,4%)	36
Si	8	6 (42,8%)	14
Total	28	22	50

Tabla 9. HERMANO CON PATOLOGIA ATOPICA (asma, rinitis o dermatitis)

Hermano atopico	ASMA N°		N° Total de pacientes
	No	Si	
No	25	16 (39%)	41
Si	3	6 (66,6%)	9
Total	28	22	50

P=0,127

En la tabla 9 encontrado que tener un hermano mayor afecto de enfermedad atópica conlleva un mayor riesgo de presentar asma infantil (p=127), aunque no es estadísticamente significativo. El hecho de que la madre y /o el padre tuviera enfermedad atópica (tablas 4, 5, 6, 7, 8) no aumentó el riesgo de asma infantil en nuestro estudio.

Para evaluar el posible efecto de tener hermano con enfermedad alérgica, padre fumador o tener gato se ha realizado una regresión logística binaria donde la variable dependiente es la probabilidad de padecer asma y las independientes tener hermano con enfermedad alérgica, padre fumador o tener gato.

$X_1 = 1,0$ ----según tenga hermano alérgico o no.

$X_2 = 1,0$ ---- según tenga gato o no

$X_3 = 1,0$ ----según tenga padre fumador o no

Las estimaciones de los coeficientes X_1 , β_1 , β_2 , β_3 fueron:

$\hat{\alpha} = -0,052$; (p= 0,913) $\hat{\beta}_1 = 1,079$; (p= 0,186); $\hat{\beta}_2 = 7,117$ (p= 0,783); $\hat{\beta}_3 = -0,793$ (p= 0,199)

Resultados

1.4 FACTORES AMBIENTALES DE RIESGO

Muchos estudios encuentran que ser hijo de una madre fumadora durante la gestación es un importante factor de riesgo de asma en la infancia. La exposición de forma reiterada a ambientes cargados con humo de tabaco se ha asociado con n incremento de las sibilancias y de la hiperreactividad bronquial. En nuestro grupo el 58% de los niños tienen padres fumadores de estos en un 27 % fuman los dos.

Tabla 10. PADRE FUMADOR

Padre fumador	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	9	11 (55%)	20
Si	19	11 (36,6%)	30
Total	28	22	50

P= 0,161

Tabla 11. MADRE FUMADORA

Madre fumadora	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	16	16 (50%)	32
Si	12	6 (33,3%)	18
Total	28	22	50

P= 0,200

Tabla 12. AMBOS FUMADORES

Fuman los 2 padres	ASMA INFANTIL		Nº Total De pacientes
	Nº No	Nº SI	
NO	17	16 (48,4%)	33
SI	11	6 (35,2%)	17
Total	28	22	50

No: no fuman o solo fuma uno de ellos

Si: fuman los dos

p= 0.279

86

Resultados

En nuestro grupo el 58% de los niños estaban expuestos al humo del tabaco tanto en el momento agudo de la bronquiolitis como después. No se analizó si la madre había fumado durante la gestación. A diferencia de la mayoría de autores, en nuestro estudio el tener un padre fumador, como se observa en la tabla 10, era un factor de riesgo mayor de presentar asma infantil (p: 0,161), que si fumaba la madre (p: 0,200), o los 2 padres (p= 0.279) tabla 11,12, aunque no eran estadísticamente significativos.

D) ANIMALES EN CASA**Tabla 13. Tener gato como animal doméstico**

TENER GATO	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	28	20 (41,6%)	48
Si	0	2 (100%)	2
Total	28	22	50

P= 0,1

Tabla 14. Tener perro como animal doméstico

TENER PERRO	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	25	21 (45,6%)	46
Si	3	1 (25%)	4
Total	28	22	50

P= 0,402

Tabla 15. Tener pájaro como animal doméstico

Resultados

Tabla 16. Tener hamster como animal doméstico

TENER HAMSTER	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	28	22 (44,8%)	50
Si	0	0	0
Total	28	22	50

Como ya es conocido el animal que produce mayor sensibilización y posteriormente asma infantil es el gato. En nuestro grupo los 2 únicos niños que tenían gato presentaron asma infantil, tabla 13, aunque el Prick y CAP (Ig E específica) a epitelio de gato fueron negativos en ambos. No había diferencias en la evolución si tenían perro, pájaros o hámster en casa, tablas 14, 15,16.

1.5 ANTECEDENTES PERSONALES:

Todos los niños de este grupo tuvieron un parto hospitalario.

Tabla17.TIPO DE PARTO

Tipo de parto	ASMA INFANTIL		Nª Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
Eutócico	15	11 (42,3%)	26
Distócico	13	10 (43,4%)	23
Total	28	22	50

p= 0,581

Tabla 18. COMPLICACIONES PERINATOLOGICAS

Complicaciones Perinatológicas	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	25	16 (39%)	41
Si	3	6 (66,6%)	9
Total	28	22	50

88

Resultados p= 0,127

Tabla 19. INFECCIONES RESPIRATORIAS PREVIAS A LA BRONQUIOLITIS

Infección Resp previa	ASMA INFANTIL		NºTotal de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	22	15 (40,5%)	37
Si	6	7 (53,8%)	13
Total	28	22	50

87

p= 0,305

No hubo diferencias en el tipo de parto, las complicaciones perinatológicas o en el haber padecido infecciones respiratorias previas a la bronquiolititis, Tablas 17,18, 19. Ninguno de ellos tenía antecedentes de sensibilización o alergia a ácaros, plantas, animales, alimentos, fármacos u otros.

Tabla 20. INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA PREVIA

Intervención quirúrgica	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	26	21 (44,6%)	47
Si	2	1 (33,3%)	3
Total	28	22	50

P= 0, 591

Tabla 21. TIPO DE VIVIENDA

Vivienda	ASMA INFANTIL		NºTotal de pacientes
	Nº No	Nº Si	
Urbana	27	21 (44,4%)	48

Resultados

1.6 INGRESO POR BRONQUIOLITIS:**A-INFECCION VIRAL**

Todo este grupo presentaba infección por el virus respiratorio sincitial, todos los demás virus estudiados fueron negativos (adenovirus, influenza A y B, parainfluenza).

B-GRAVEDAD DE LA BRONQUIOLITIS

El 80% de los niños de este grupo tuvieron una bronquiolitis moderada según la escala de Wood Downes modificada. Esto es debido a que, los que tenían una bronquiolitis leve no ingresaban en el hospital y no se les planteaba este seguimiento. Un 8% tuvieron una bronquiolitis grave.

Tabla 22. Evolución según gravedad de la bronquiolitis

E. Wood Donnes	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
Leve	7	3 (30%)	10
Moderada	19	16 (45,7%)	35
Grave	2	3 (60%)	5
Total	28	22	50

P= 0, 507

En nuestro estudio la gravedad clínica obtenida mediante la puntuación de Wood – Downes modificada, no es un parámetro que nos permita predecir cuales van a presentar asma infantil y cuales no, como se observa en la tabla 22.

Tabla 23. RX de tórax durante la bronquiolitis

RX de tórax	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
Normal	19	12 (38,7%)	31
Patológica	9	10 (52,6%) ↑	19
Total	28	22	50

P= 0,252

No hubo diferencias en la evolución a asma infantil en los que presentaron RX patológica como los que no, tabla 23.

C-TRATAMIENTO DE LA BRONQUIOLITIS

Todos los niños de este grupo recibieron tratamiento con oxígeno, pero los que tenían un escala de Wood Downes ≥ 3 (n=43), además recibieron broncodilatadores asociados o no a corticoides.

89

Tabla 24. TRATAMIENTO CON SALBUTAMOL INHALADO

Salbutamol Inhalado	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	6	1 (14,2%)	7
Si	22	21 (48,8%) ↑	43
Total	28	22	50

P= 0,095

Tabla 25. TRATAMIENTO CON CORTICOIDES ORALES

CORTICOIDES Orales	ASMA INFANTIL		Nº Total de pacientes
	Nº No	Nº Si	
No	21	11 (34,3%)	32
Si	7	11 (61,1%) ↑	18
Total	28	22	50

P= 0,063

Los niños que a los 2 años evolucionaron a asma recibieron durante el ingreso por bronquiolitis, más tratamiento con salbutamol inhalado y corticoides orales, aunque no fue estadísticamente significativo, como se objetiva en las tablas 24,25.

Tabla 26. TRATAMIENTO CON CORTICOIDES EV

Resultados

Tabla 27. TRATAMIENTO CON ANTIBIOTICOS EV

ANTIBIÓTICOS Endovenosos	ASMA Nº		NºTotal de pacientes
	No	Si	
No	18	18 (50%) ↑	36
Si	10	4 (28,5%)	14
Total	28	22	50

P = 0,146

Tabla 28. EVOLUCIÓN DEL INGRESO SOBREINFECCIÓN BACTERIANA

SOBRE INFECCIÓN BACTERIANA	ASMA Nº		NºTotal de pacientes
	No	Si	
No	18	18 (50%) ↑	36
Si	10	4(28,5%)	14
Total	28	22	50

P= 0,146

En las tablas 27, 28 se muestra la administración de antibióticos y la presentación de sobreinfección bacteriana en ambos grupos.

Tabla 29. INFLUENCIA DEL INICIO DE LA ESCOLARIZACIÓN AL AÑO DE EDAD, EN LA EVOLUCIÓN A ASMA INFANTIL

Escolarización	ASMA Nº		NºTotal de pacientes
	No	Si	
< 1 año	1	2 (66,6%)	3
> 1 año	27	20(42,5%)	47
total	28	22	50

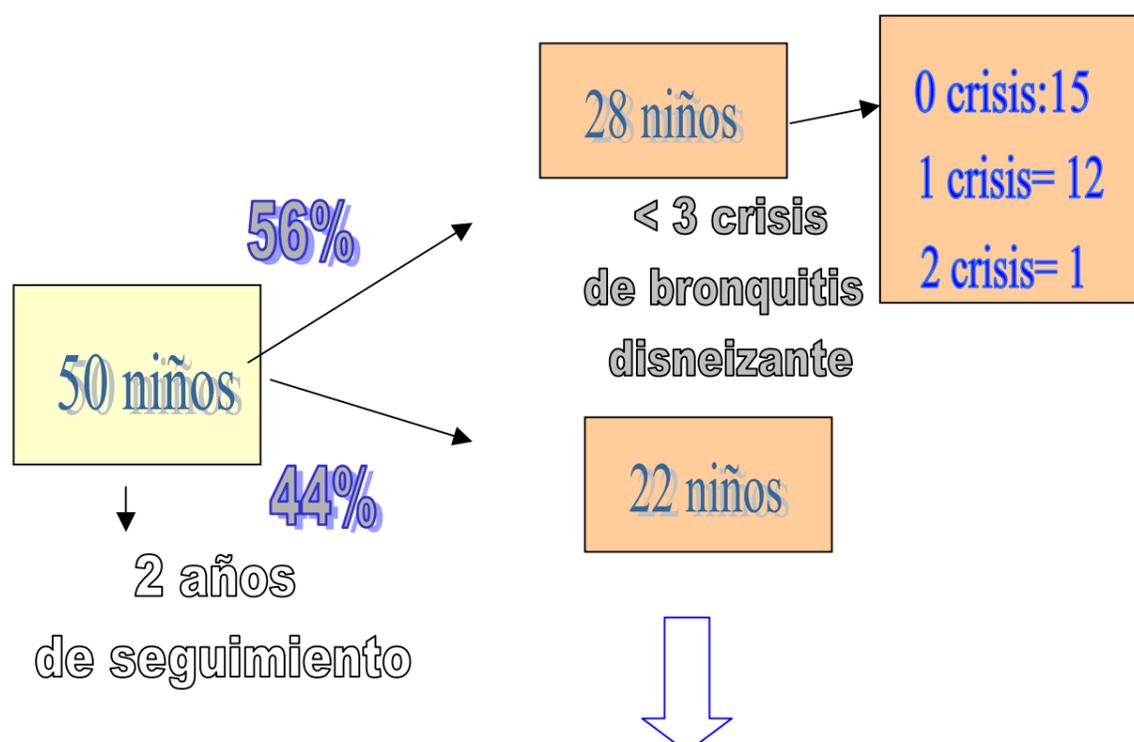
P=0.409

No hay diferencias en la evolución si se inicia la escolarización al año de edad, tabla 29.

Resultados

1.8 EVOLUCION CLINICA

A los 2 años completaron el estudio 50 niños. Siguiendo los criterios de asma infantil se dividieron estos 50 niños en dos grupo uno de 28 niños (56%) tuvieron episodios de tos y sibilancias que no entraban dentro de los criterios de asma infantil y los otros 22 niños (44%) tuvieron asma infantil, según los criterios clínicos definidos en la página 61(Fig. 13).



Resultados

**RESULTADOS ANALÍTICOS DE LOS NIÑOS CON BRONQUIOLITIS (Grupo A)
(50 niños)****1-Tabla 30 (Análisis efectuados durante el ingreso por bronquiolitis)**

	Asma infantil	N	Media	Error tip. De la media	Sig p
Eosinofilos %	No	28	2,2143	,2815	,829
	Si	21	2,0857	,3266	
Eosinófilos Totales	No	31	,2742	3,040E-02	,168
	Si	19	,2053	3,860E-02	
Ig G mg/L	No	25	4523,8000	366,2239	,268
	Si	22	4678,3182↑	343,7645	
Ig A Mg/l	No	24	241,2500	29,4334	,102
	Si	22	301,1364 ↑	55,9349	
Ig M mg/L	no	25	580,9600	41,6838	,014
	Si	22	659,6364↑↑	72,3368	
Ig E total KUI/L	no	25	15,2000	3,7005	,739
	Si	22	15,9545	4,2607	
Linfocitos B %	no	23	27,2174	2,0167	,775
	Si	17	32,7647↑	2,3097	
Linfocitos T %	no	23	63,4348	1,9067	,710
	Si	17	57,7647↓	1,7834	
T4 %	no	23	48,0435	1,5186	,864
	Si	16	41,8125↓	1,7706	
T8 %	no	23	23,9130	1,1139	,806
	Si	17	22,4706↓	1,2251	
T4/T8	no	23	2,0826	9,976E-02	,691
	Si	17	1,9794	,1208	
Linfocitos T absolutos	no	21	3326,4286	277,5096	,143
	Si	17	2441,1765↓	216,5902	
Interleucina 4 pg/ml	no	21	,3989	8,889E-03	,128
	Si	17	,3900 =		
Interferón gamma pg/ml	No	21	2,1137	,1145	,242
	Si	17	1,9740 ↓	,2251	

En la fase aguda de la bronquiolitis la respuesta inmunológica frente a la infección viral fue anómala, en el sentido de que presentaron una respuesta inmune humoral (con elevación de las inmunoglobulinas G, M, A) y un descenso de la inmunidad celular T, T4, T8. La Ig E total de los que presentaron asma no se elevó en el momento agudo de la bronquiolitis. Los valores medios de IL-4 e IFN-gamma se detectaron en niveles normales esperados para la edad, ~~Tabla 31~~

2-Tabla 31 Grupo A (2º análisis efectuado a los 6 meses de edad) (50 niños)

	Asma infantil	N	Media	Error Tip de la media	Sig p
Eosinofilia %	No	25	3,8520	,6273	,217
	Si	21	4,1524	,6163	
Eosinófilos Totales	No	29	,4069	6,947E-02	,823
	Si	16	,4312	7,344E-02	
Ig G Mg/L	No	26	4236,2308	288,0913	,916
	Si	21	5691,8571 ↑	365,2878	
Ig A Mg/L	No	26	221,1538	23,6376	,081
	Si	21	298,7619 ↑	34,4563	
Ig M Mg/L	No	25	726,0400	52,9427	,361
	Si	21	721,1905 =	52,6875	
Ig E total KUI/L	No	26	30,1923	12,3606	,713
	Si	21	28,6667 =	8,2843	
Prot cat eosinófila ug/L	No	20	8,3200	3,3499	,908
	Si	18	11,2228 ↑	1,9910	
Linf B %	No	22	25,6364	1,6999	,799
	Si	17	27,7059 ↑	1,7599	
Linf T %	No	22	66,182	1,5436	,792
	Si	17	62,7059 ↓	1,6533	
T4 %	No	22	48,3182	1,4850	,406
	Si	17	44,8824 ↓	2,1470	
T8 %	No	22	23,0909	1,5174	,930
	Si	17	24,6471 =	1,4851	
T4/T8	No	22	2,2500	,1317	,859
	Si	17	1,9535	,1554	
Linfocitos T absolutos	No	21	31112,6190	155,6776	,959
	Si	17	2679,1176 ↓	205,6724	

Resultados

3. Tabla 32: grupo A (50 niños) 3ª analítica realizada al año de edad

	Asma infantil	N	Media	Error tip de la media	Sig p
Eosinofilia %	No	25	3,0800	,3552	,181
	Si	19	3,8368	,6756	
Eosinófilos Totales	No	29	,3172	3,142E-02	,314
	Si	17	,3941	8,334E-02	
Ig G Mg/L	No	25	5826,0400	311,2584	,867
	Si	18	7102,0556↑	365,8615	
IgA mg/L	No	25	380,5600	39,5359	,267
	Si	18	430,3889 ↑	57,9983	
Ig m Mg/L	No	25	881,4800	76,1914	,413
	Si	18	936,6667 ↑	96,5373	
Ig E total KUI/L	No	25	62,9200	31,1869	,101
	Si	19	39,1053 ↓	8,8025	
Prot cat eosinofila ug/L	No	25	9,8840	1,7482	,122
	Si	20	12,6600 ↑	2,84419	
Linf B %	No	22	25,9545	1,4938	,781
	Si	17	27,8235 ↑	1,7930	
Linf T %	No	22	64,2727	1,7571	,865
	Si	17	64,0000 =	2,0952	
T4 %	No	22	44,7727	1,7715	,922
	Si	17	43,9412 =	1,8401	
T8 %	No	22	23,1818	1,6457	,112
	Si	17	24,1765 =	1,1480	
T4/t8	No	22	2,1514	,1506	,112
	Si	17	1,8594	,1169	
Linf T absolutos	No	22	2643,2727	217,4854	,871
	Si	17	2537,6471=	237,1083	
Interleucina 4 pg/ml	No	22	0,3900		,140
	Si	17	0,4251 ↑	3,548E-02	
Interferón Gamma Pg/ml	No	22	2,1636	,4789	,468
	Si	17	1,7882 ↓	,4431	

Al año de edad, tabla 32, todavía se mantiene la elevación de la inmunidad humoral⁹⁶ y la proteína cationica eosinófila. La inmunidad celular se ha normalizado. En los niños que presentaron asma, los valores de IL-4 se han elevado, mientras que los de IFN-gamma son más bajos.

4. Tabla 33: Grupo A (50 niños) análisis realizados a les 18 meses de edad

	Asma infantil	N	Media	Error tip de la media	Sig p
EOSINOFILIA %	No	26	3,0692	,4244	,383
	Si	20	3,7000	,5490	
Eosinófilos Totales	No	17	,3235	6,994E-02	,261
	Si	12	,4833	,1336	
Ig G Mg/L	No	26	6603,0000	338,7186	,303
	SI	21	6924,1429 ↑	280,5610	
Ig A Mg/L	No	26	428,3077	45,7371	,866
	SI	21	448,2857 ↑	54,6970	
Ig M Mg/L	No	26	948,3846	88,3826	,851
	SI	21	908,6667 =	87,2608	
Ig E total KUI/L	No	26	46,1538	11,8563	,631
	SI	21	58,9524 ↑	12,2534	
Proteína cat. Eosinofila ug/L	No	26	12,3654	2,5861	,935
	SI	21	10,5900 ↓	2,6912	
Linfocitos B %	No	25	26,0800	1,4559	,890
	SI	19	27,0000 ↑	1,5672	
Linfocitos T %	No	25	64,1600	1,6530	,703
	SI	19	64,7368 =	1,7866	
T4 %	No	25	43,6400	1,6979	,327
	SI	19	43,8421 =	2,0988	
T8 %	No	25	23,8400	1,3212	,605
	SI	19	25,2105 ↑	1,6070	
T4/T8	No	25	1,9480	,10778	,410
	SI	19	1,8479	,1397	
Linfocitos T absolutos	No	25	2611,0800	186,2492	,269
	SI	19	2368,2105	162,6478	
Interleucina 4 ng/ml	No	25	0,3900		,206
	SI	19	0,4126 ↑	3,945E-02	

Resultados

5. Moléculas de adhesión (a los 18 meses de edad). En el grupo A (50 niños) y grupo B (20 niños)

a) Tabla 34. ANOVA sobre el factor asma infantil en la sL-selectina

0=niños sanos
1= niños con menos de 3 bronquitis disneizante
2=niños con asma infantil

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter.-grupo	9899546,0	2	4949773,0	21,611	,000
Intra-grupo	11452006	50	229040,115		
Total	21351552	52			

b) Tabla 35. Anova sobre el factor asma infantil en el s VCAM-1

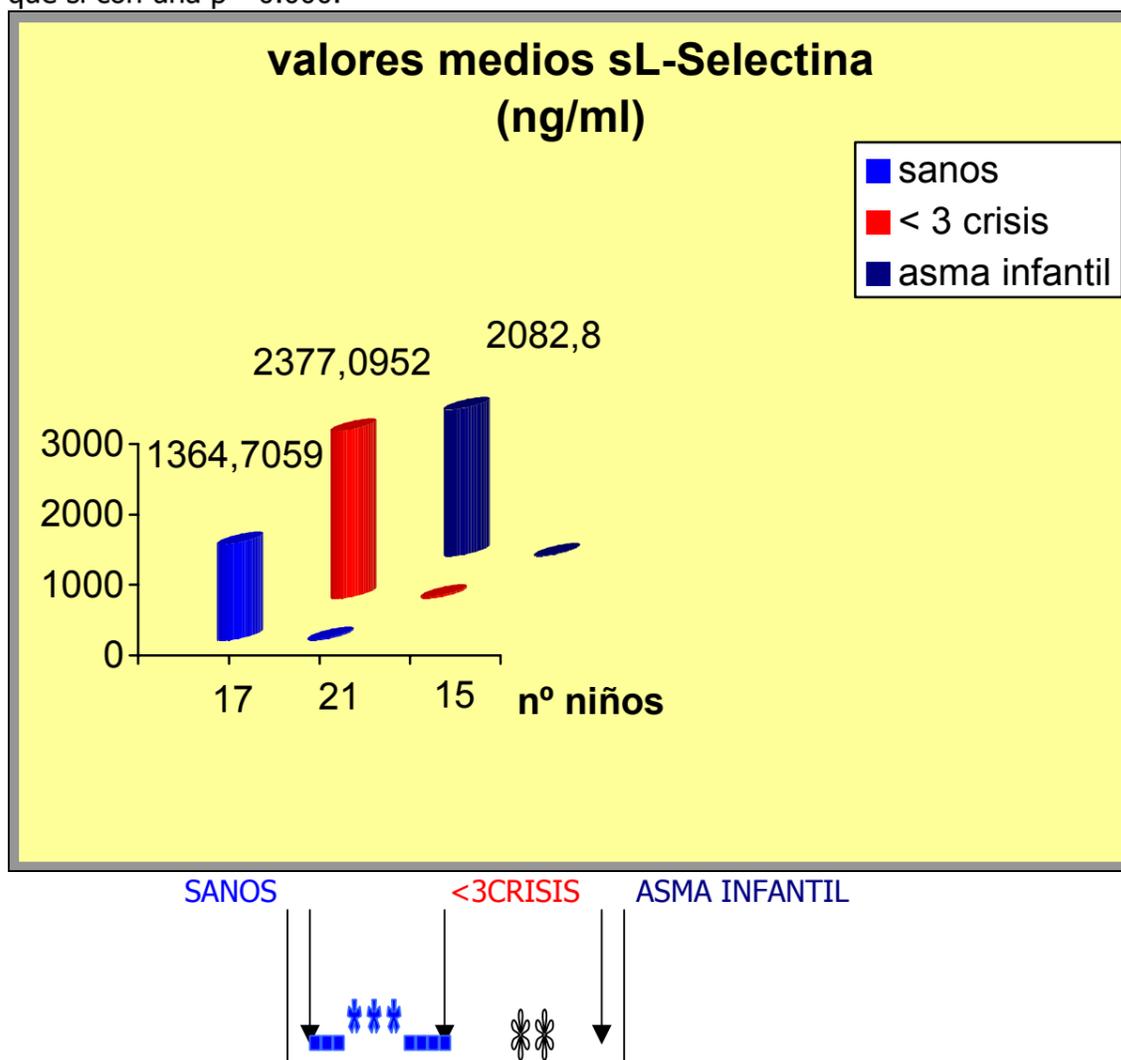
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter.-grupo	562358,604	2	281179,302	1,213	,306
Intra-grupo	11586342	50	231726,838		
Total	12148701	52			

c) Tabla 36. Comparaciones múltiples (Scheffé)

	Número	Media	Error tip	Sig p
Sl -selectina (ng/ml)				
Sano	17	1364,7059	47,6979	,000
No asma	21	2377,0952	114,1031	
asma	15	2082,8000	159,8360	
infantil	53	1969,0755	88,0187	
total				
S VCAM-1 (ng/ml)				
Sano	17	1726,6667	202,8292	,306
No asma	21	1512,1364	65,0750	
Asma	15	1482,5000	64,2440	
infantil	53	483,3517		
Total				

98

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de la SL selectina entre los niños del grupo A, tanto los que no presentaron asma como los que presentaron (p=NS). En cambio al comparar los valores del grupo A con los del Grupo B (tablas 34,36) encontramos una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de niños sanos B con los que no presentaron asma y también con los que si con una p= 0.000.



Resultados

Se objetivó en los análisis efectuados en el momento de la bronquiolitis aguda, en los niños que después presentaron asma infantil, un patrón analítico con elevación de los valores de los linfocitos B, es decir de la inmunidad humoral. Esto se correlacionó con una elevación en suero de las inmunoglobulinas G, A y sobretodo de Ig M (p=0.014) esta última estadísticamente significativa, en cambio todavía no había diferencia en los valores de la Ig E (Fig. 15, 16, 17, 18, 26, 27, 28).

Grupo A

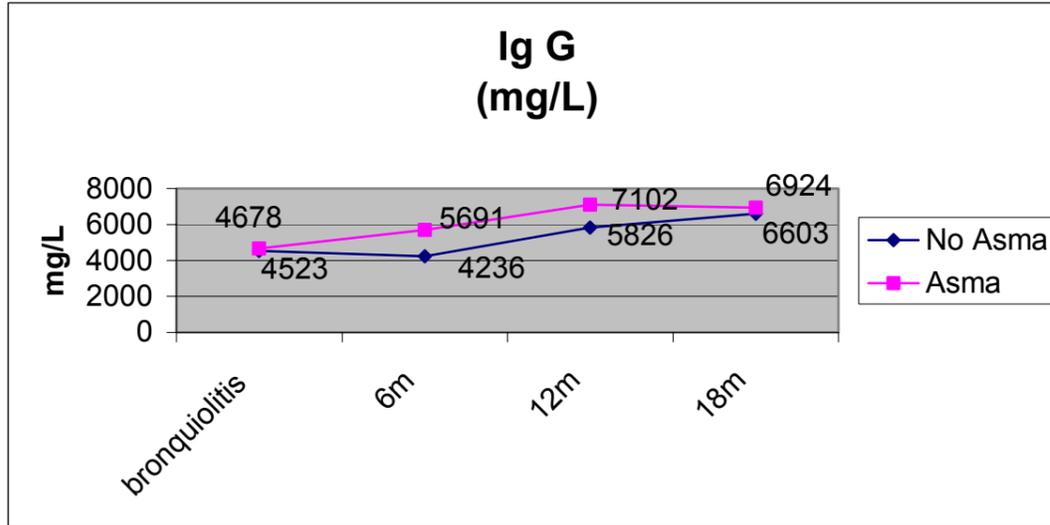
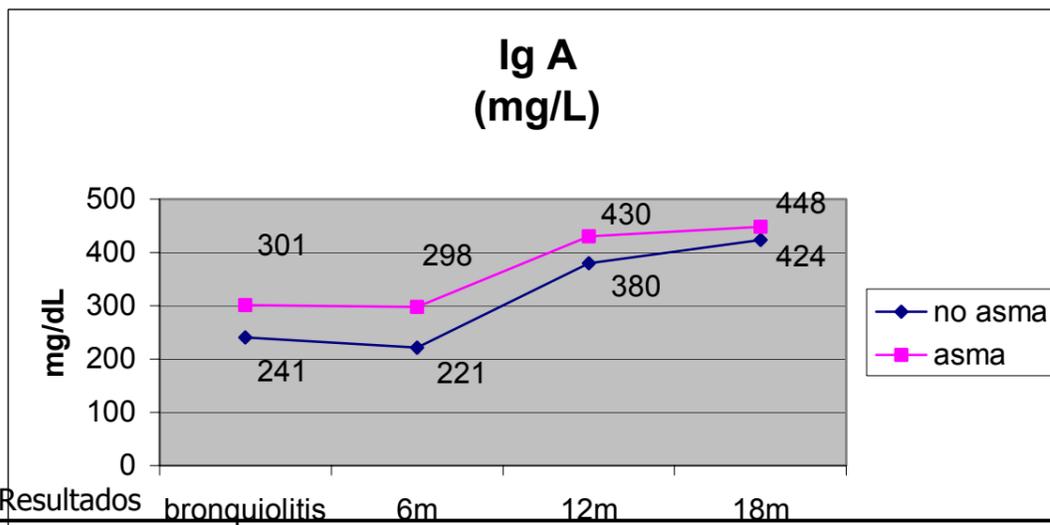


Figura 15: Evolución de la Inmunoglobulina G en el grupo A



Resultados

Figura 16: Evolución de la Inmunoglobulina A en el grupo A

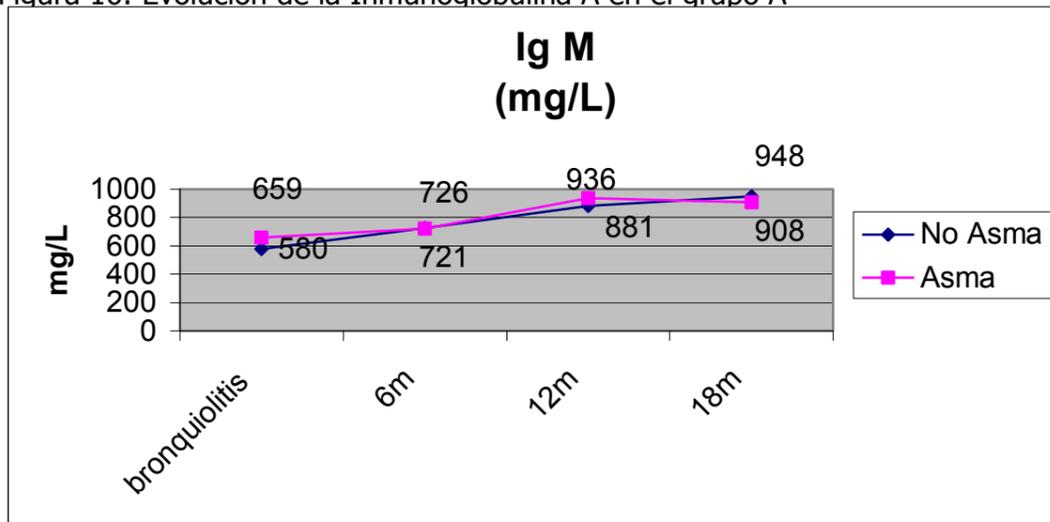
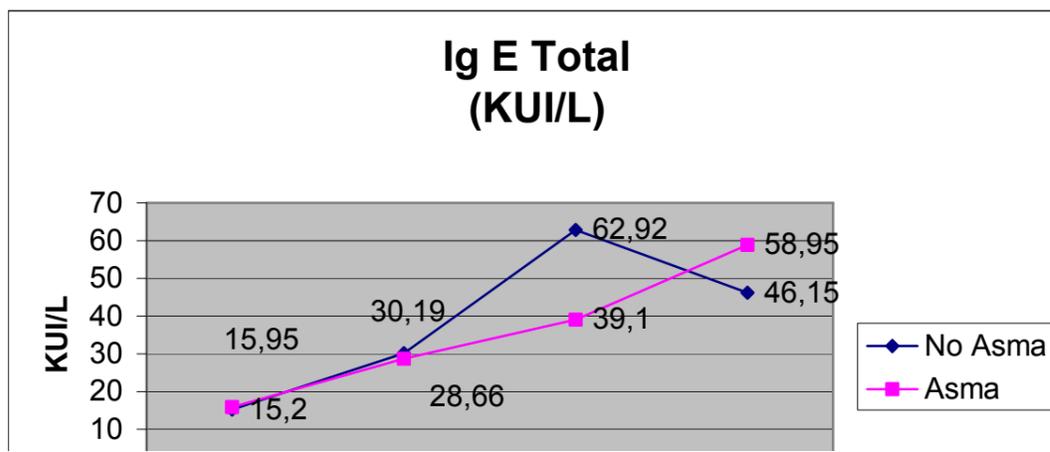


Figura 17: Evolución de la Inmunoglobulina M en el grupo A



Resultados

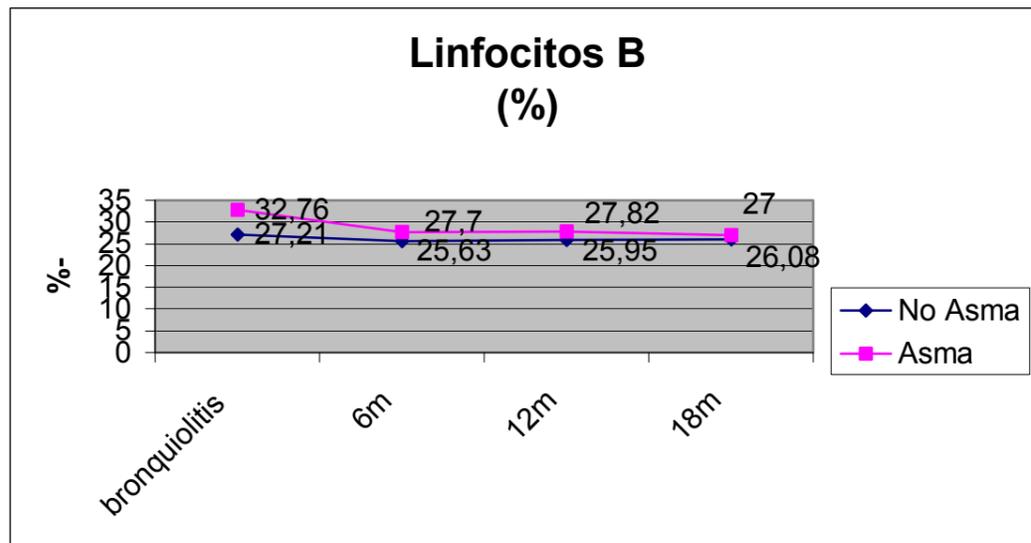


Figura 19: Evolución de los Linfocitos B en el grupo A

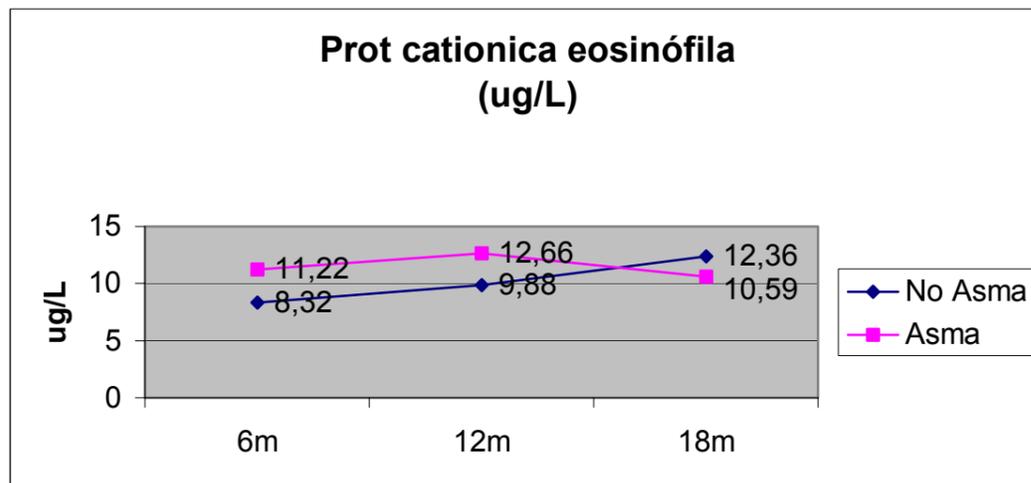


Figura 20: Evolución de la Proteína cationica eosinofila en el grupo A

En el grupo A hay un aumento de la proteína cationica eosinófila en los niños que presentaron asma, a los 6 y 12 meses de edad, por estimulación de las interleucinas TH2, la IL-5 atrae eosinófilos y estos al degranularse liberan la PCE..

Resultados

Se encontró, en nuestro estudio, un descenso en la producción de linfocitos T tanto los T4 como T8, es decir un descenso de la inmunidad celular, en el momento de la bronquiolitis aguda, en los que presentaron posteriormente asma infantil. Los T y T4 permanecieron bajos hasta los 12 meses de edad (Fig. 21, 22, 23, 29, 30, 31).

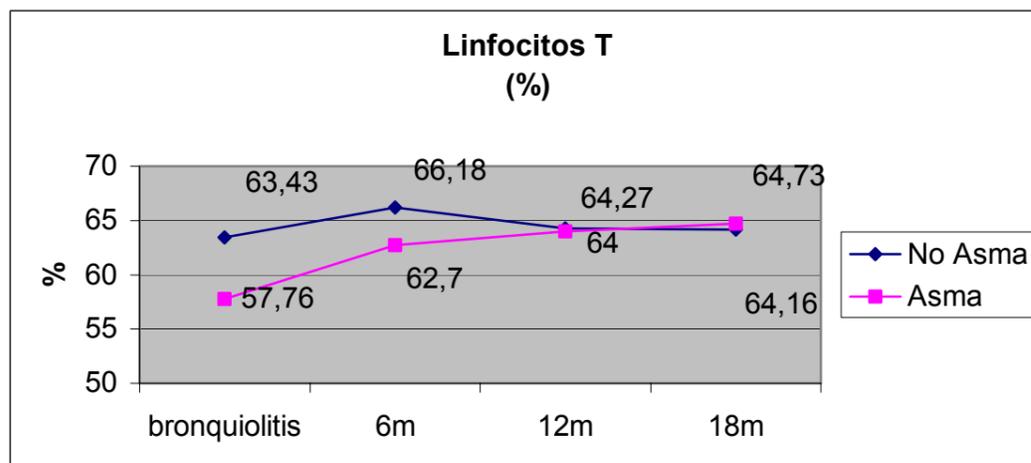
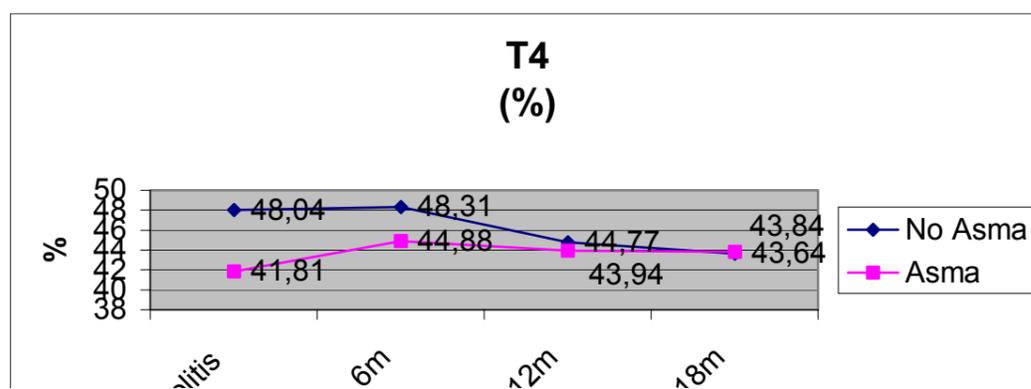


Figura 21: Evolución de los Linfocitos T en el grupo A



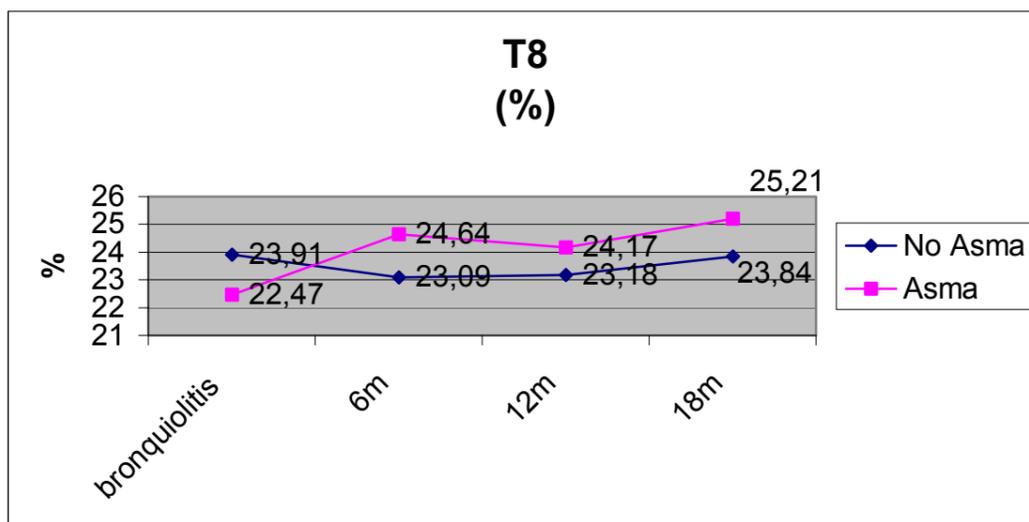


Figura 23: Evolución de los linfocitos T8 en el grupo A

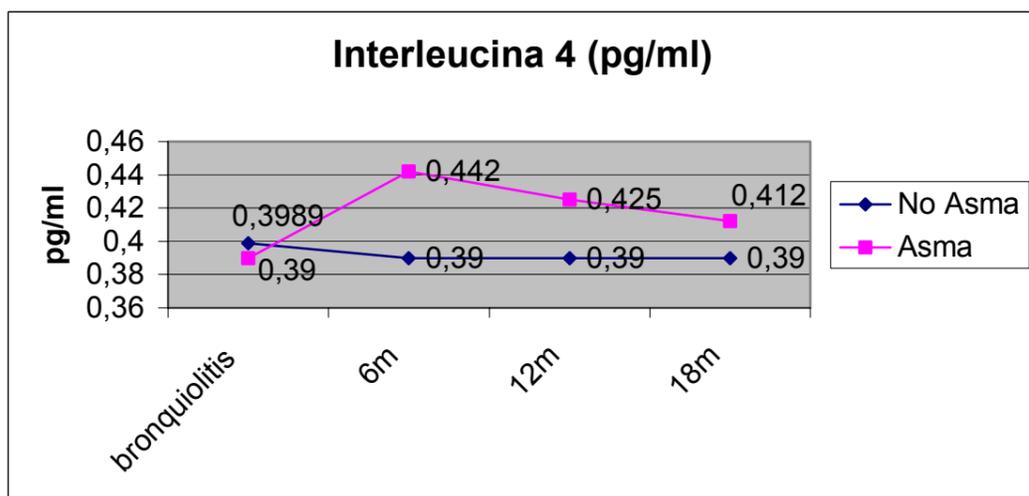


Figura 24: Evolución de la Interleucina 4 en el grupo A

En nuestro grupo a los 6,12 y 18 meses de vida presentan unos valores en suero más altos de interleucina 4 los niños que hicieron asma aunque no estadísticamente significativo. (Fig. 24).

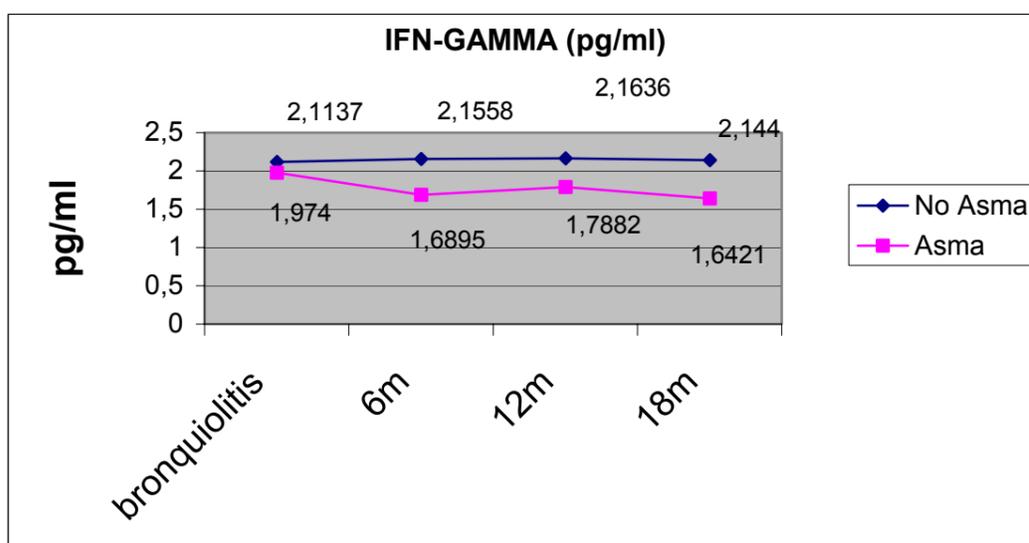


Figura 25: evolución del Interferón gamma en el grupo A

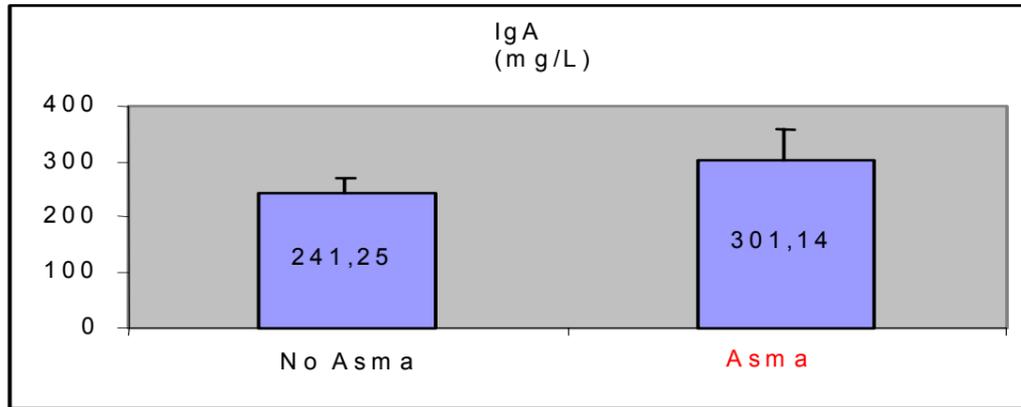
En el grupo A, hay un descenso de la producción de interferon gamma en los niños que presentaron asma a los 6,12 y 18 mes de vida, en comparación con los que no, que indica activación de la vía de los TH2 (Fig 25).

Resultados

Grupo A

Primera analítica durante la bronquiolitis

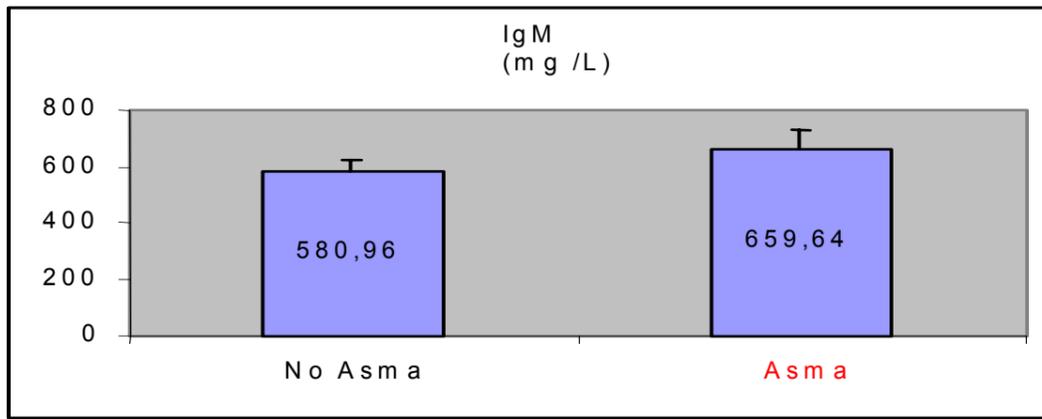
Asma infantil vs IgA



P: 0,102

Figura 26: Asma infantil vs Ig A durante la bronquiolitis

Asma infantil vs IgM

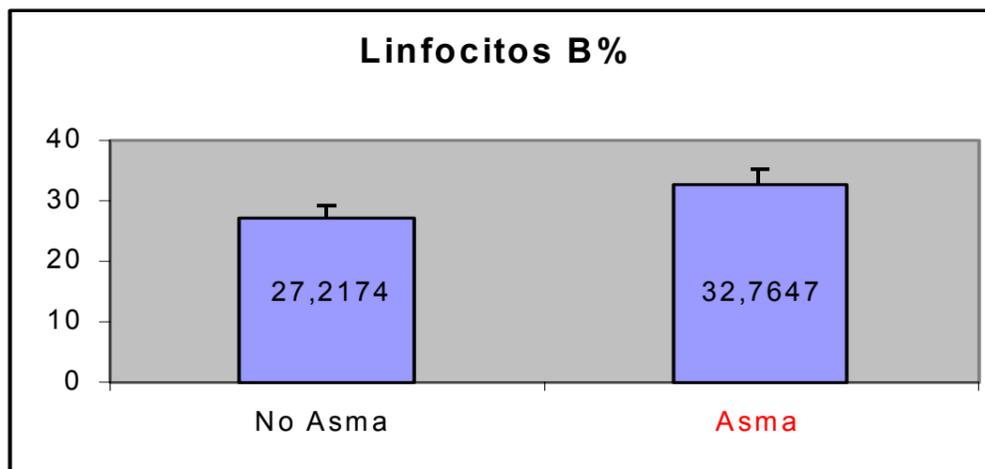


P: 0,014

106

Figura 27: Asma infantil vs Ig M durante la bronquiolitis

Asma infantil vs LB

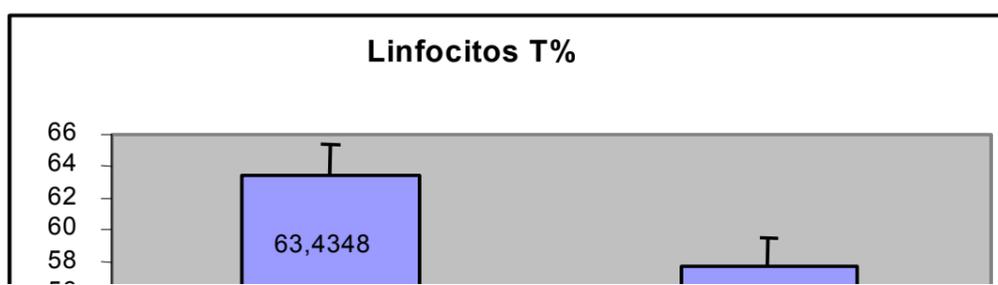


P: 0,775

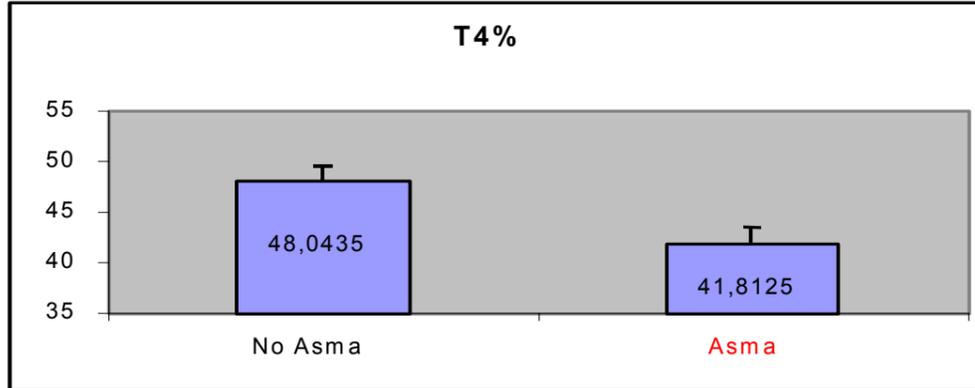
105

Figura 28: Asma infantil vs Linfocitos B durante la bronquiolitis

Asma infantil VS LT



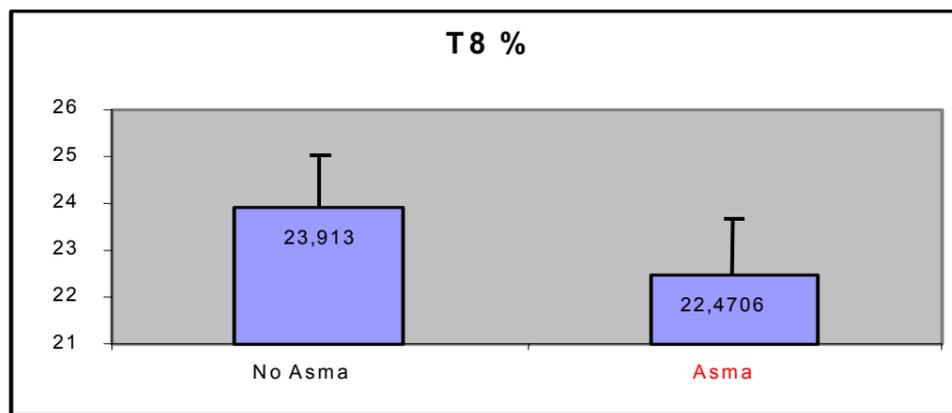
Asma infantil vs LT4



P: 0,864

Figura 30: Asma infantil vs linfocitos T4 durante la bronquiolitis

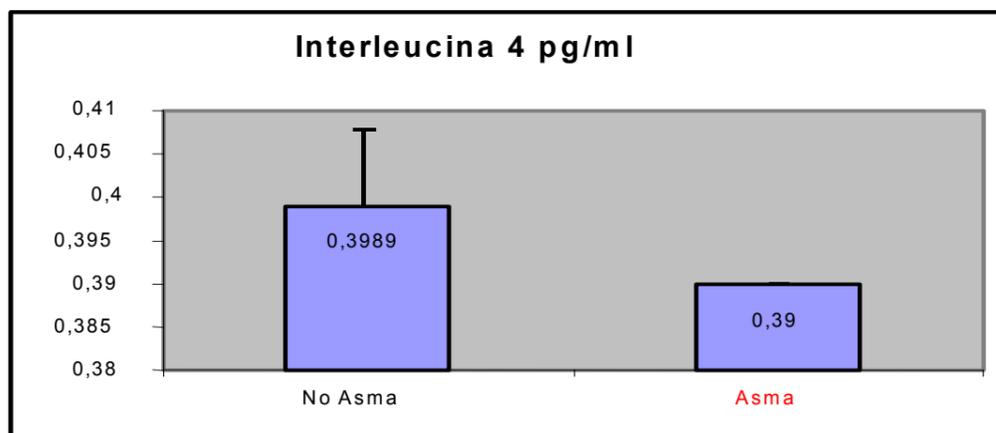
Asma infantil vs Linfocitos T8



P: 0,806

Figura 31: Asma infantil vs linfocitos T8 durante la bronquiolitis

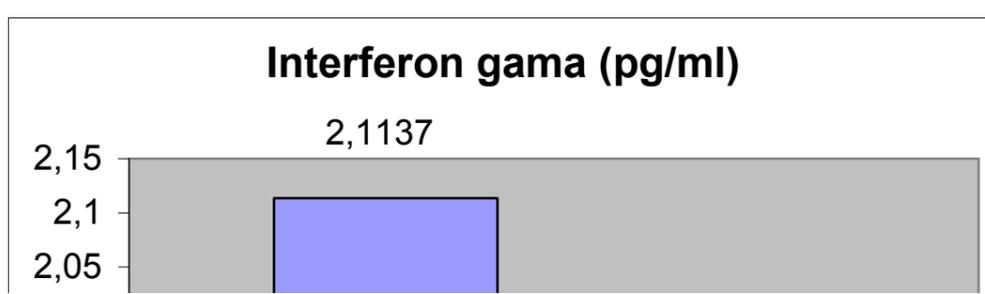
Asma infantil vs IL 4



P: 0,128

Figura 32: Asma infantil vs Interleucina 4 durante la bronquiolitis

Asma infantil vs IGN gamma



Resultados

Segunda analítica a los 6 meses de edad

Asma infantil vs IgA

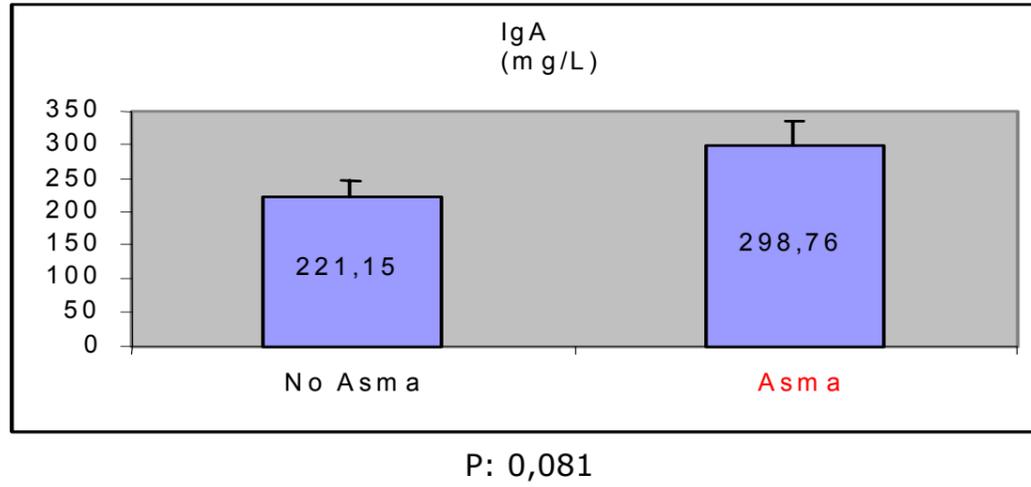
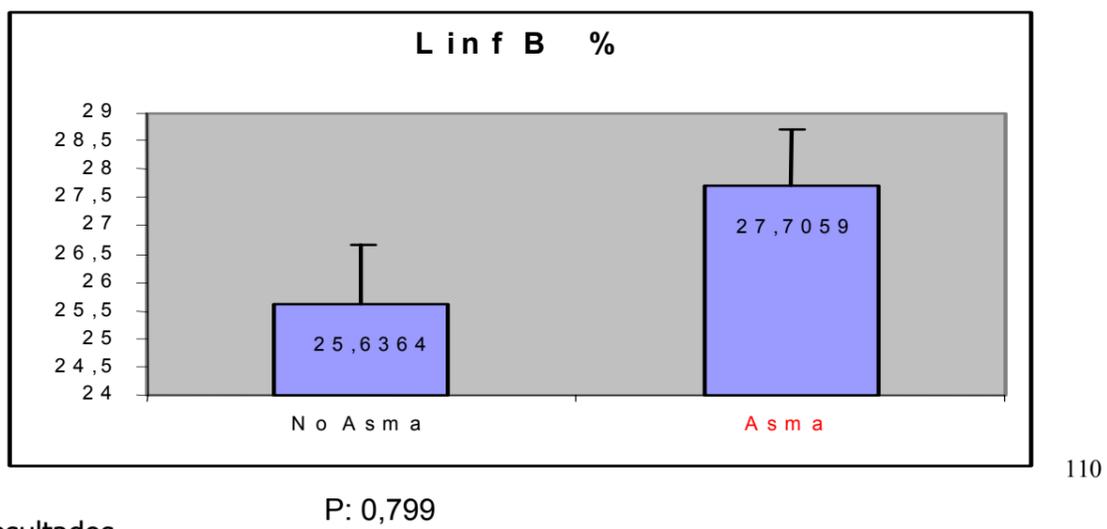


Figura 34: Asma infantil vs Ig A a los 6 meses de edad

Asma infantil vs LB



Resultados

Figura 35: Asma infantil vs Linfocitos B a los 6 meses de edad
 En las fig 36, 37, 38 se observa que la inmunidad celular, linfocitos T y T4, a los 6 meses de edad, persiste baja en aquellos niños que posteriormente presentaron asma. Los linfocitos T8 se han igualado en los dos grupos.

Asma infantil vs LT

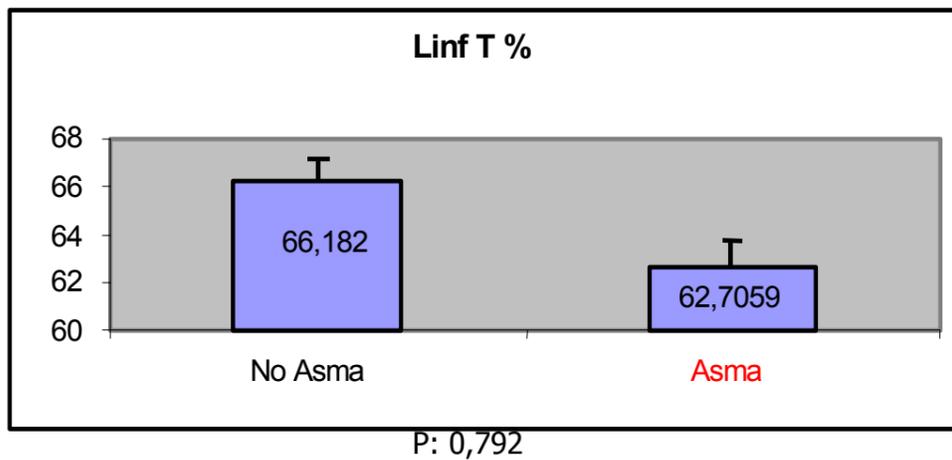
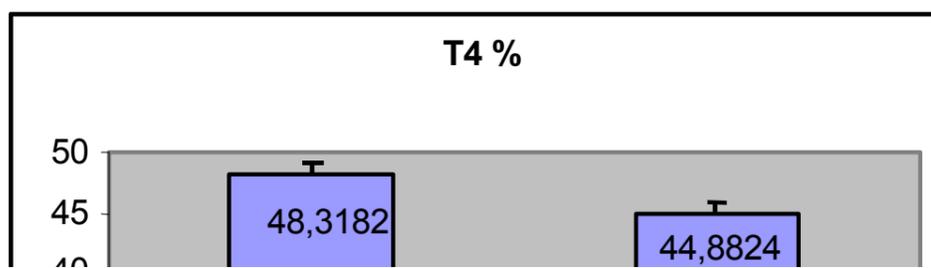
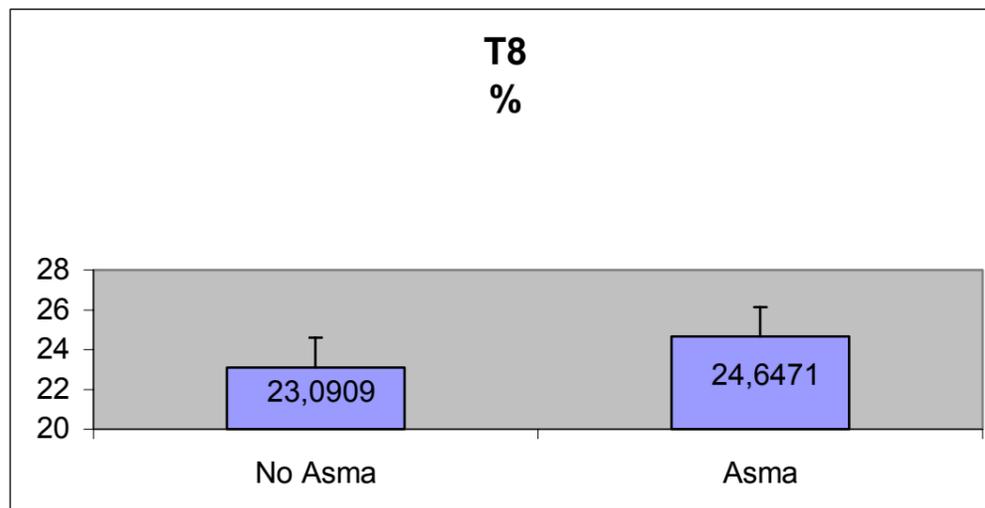


Figura 36: Asma infantil vs Linfocitos T a los 6 meses de edad.

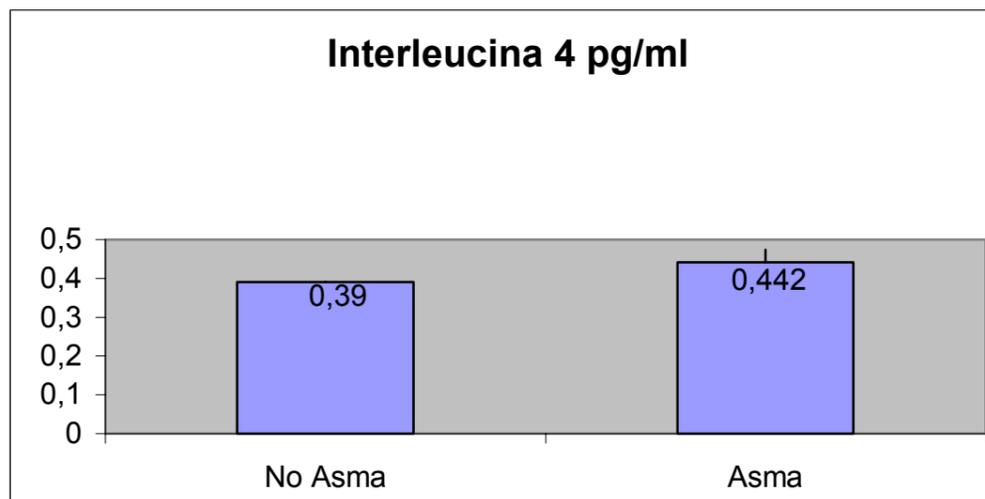
Asma infantil vs L T4



Asma infantil vs LT8

P: 0,93

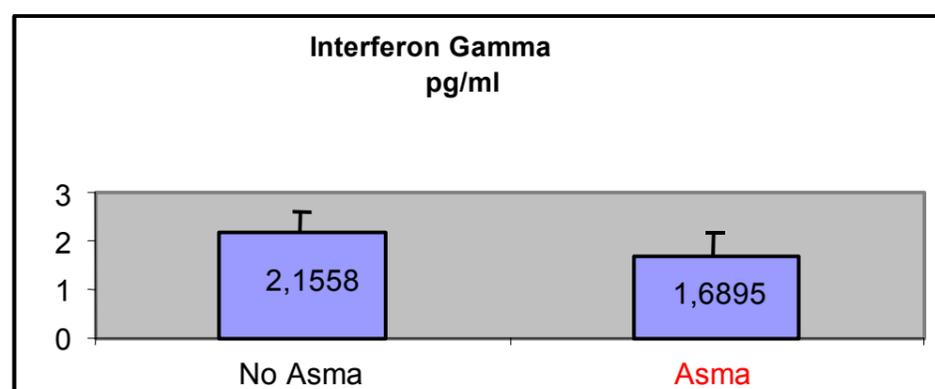
Figura 38: Asma infantil vs Linfocitos T8 a los 6 meses de edad

Asma infantil vs IL4

P: 0,120

112

Figura 39: Asma infantil vs Interleucina 4 a los 6 meses de edad. Encontramos unos valores en suero más altos de interleucina 4 ($p = 0,120$) los niños que hicieron asma (0,44 pg/ml) que los que no (0,39 pg/ml).

Asma infantil vs IFN gamma

P: 0,500

111

Figura 40: Asma infantil vs Interferón gamma a los 6 meses de edad

En esta figura se objetiva un descenso de la producción de interferon gamma en los niños que presentaron asma con valor medio de 1,68 pg/ml, en comparación con los que no 2,15 pg/ml ($p = 0,50$), lo que indica activación de la vía de los TH2.

Resultados

Grupo A. Tercera analítica a los 12 meses de edad

Asma infantil vs Prot cat eosinófila

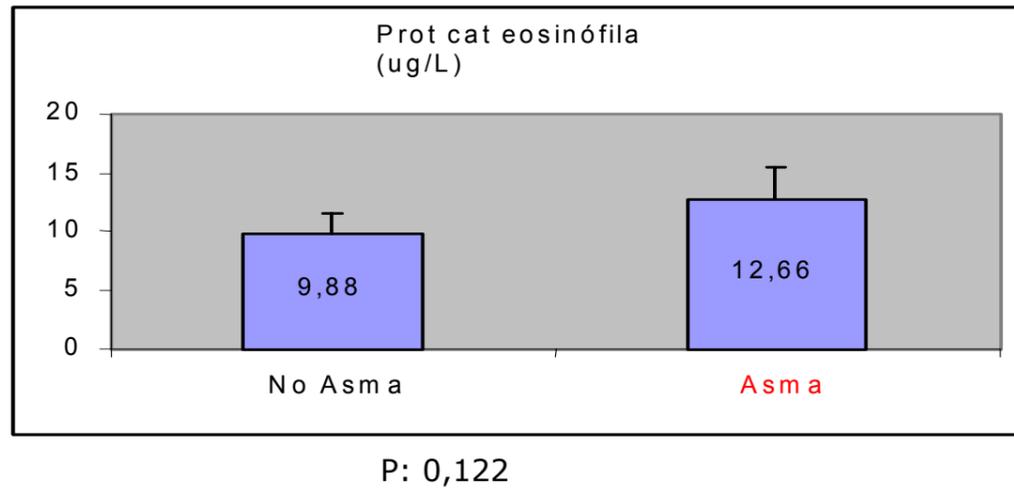
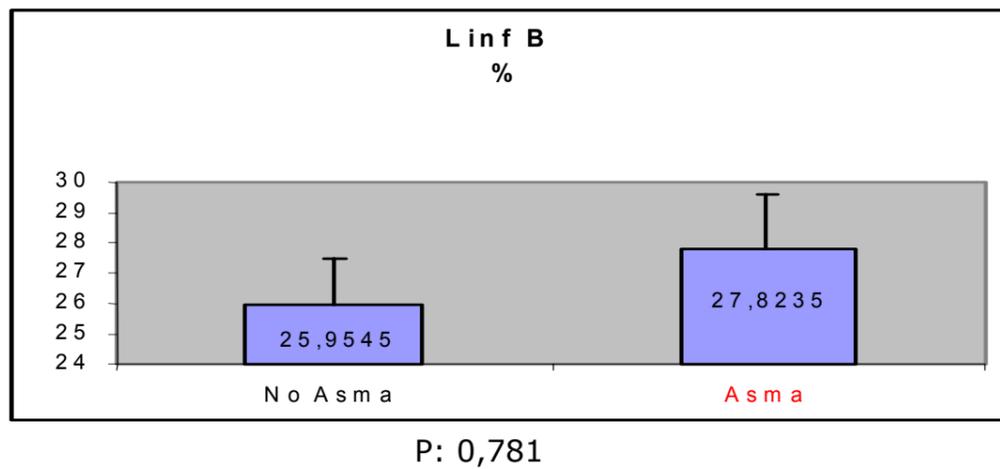


Figura 41: Asma infantil vs proteína cationica eosinofila a los 12 meses de edad.

También se mantiene la elevación que había iniciado a los 6 meses de edad, de la proteína cationica eosinofila (12,66 ug/L) (Fig 41) en los que presentaron asma en comparación con los que no (9,88 ug/L) (p= 0,122).

Asma infantil vs LB

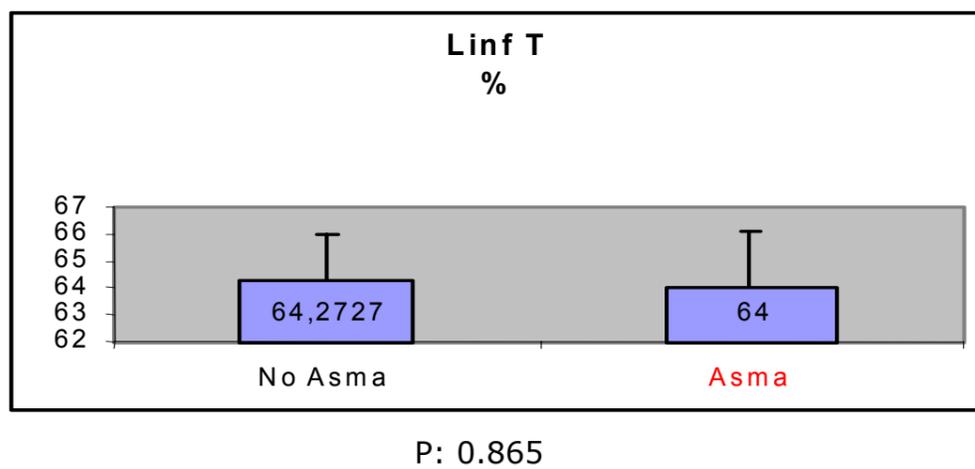


114

Figura 42: Asma infantil Vs Linfocitos B a los 12 meses de edad.

En nuestro grupo al año de edad todavía encontramos una elevación de los linfocitos B (27%) (Fig 42) en los niños que presentaron asma.

Asma infantil VS LT

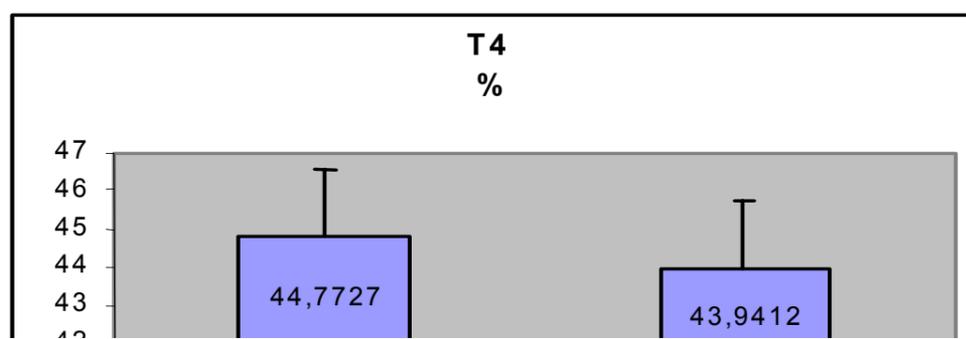


113

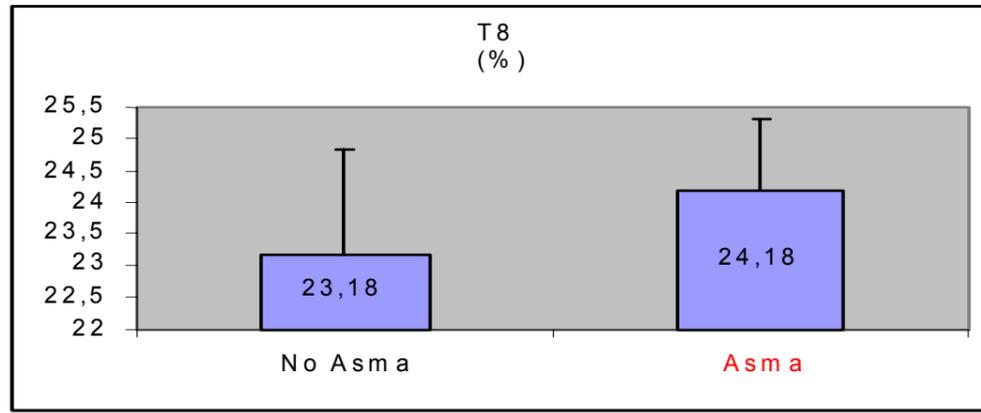
Figura 43: Asma infantil vs Linfocitos T a los 12 meses de edad.

Los linfocitos T, T4, T8 y LT absolutos al año de vida, tienen valores medios similares en los que posteriormente presentaron asma y en los que no.

Asma infantil vs LT4



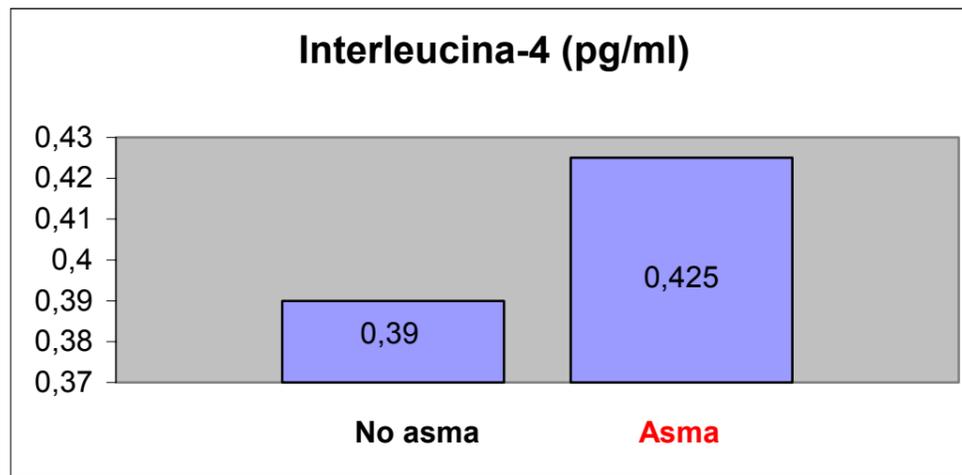
Asma infantil vs T8



P: 0,112

Figura 45: Asma infantil vs Linfocitos T8 a los 12 meses de edad.

Asma infantil vs IL-4

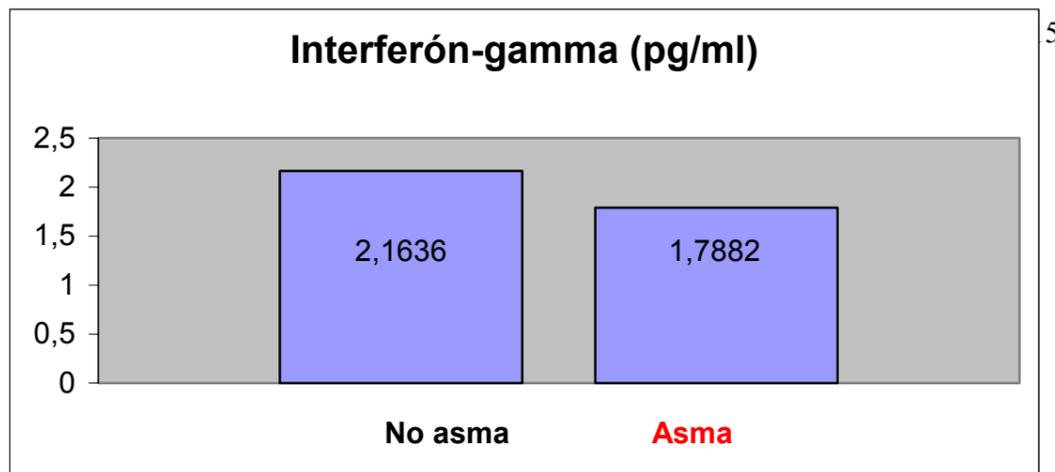


p: 0,140

Fig 46-Asma infantil vs Interleucina 4 a los 12 meses de edad

En nuestro grupo los niños que no presentaban asma siguen manteniendo los valores de IL-4 por debajo de la sensibilidad del método (0,39 pg/ml), mientras que los que presentaron asma tienen unos valores medios de IL4 elevados de 0,425 pg/ml (p=0,140).

Asma infantil vs IFN gamma



p: 0,468

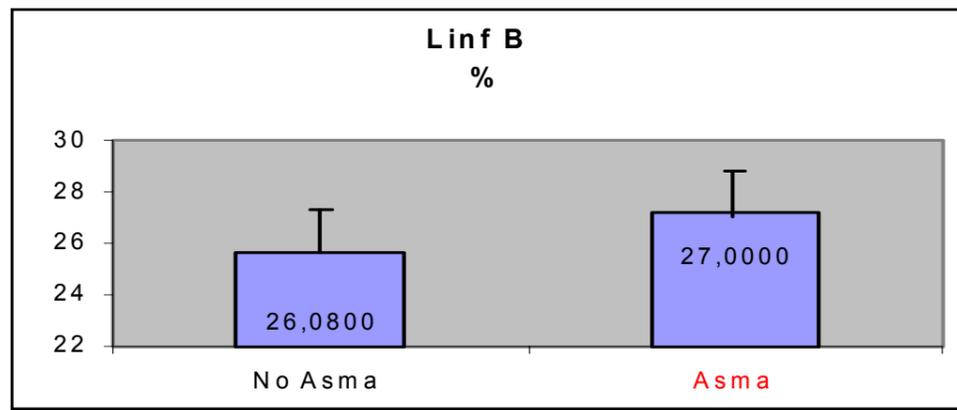
Fig 47-Asma infantil vs Interferón gamma a los 12 meses de edad

Los valores medios de interferon gamma a esta edad fueron de 2,163 pg/ml en los que no presentaron asma y de 1,788 pg/ml en los que si.

Grupo A

4- Analítica a los 18 meses de edad

Asma infantil vs LB

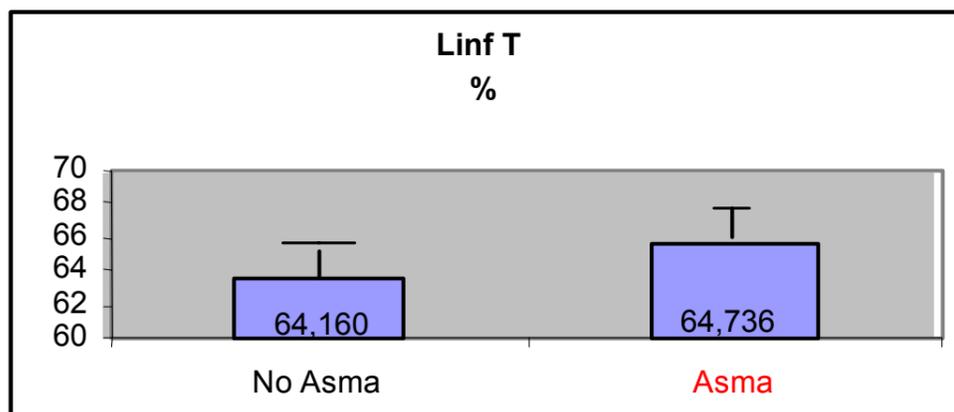


P: 0,890

Figura 48: Asma infantil vs Linfocitos B a los 18 meses de edad.

Los valores medios de Linfocitos B se mantienen más elevados en los niños que presentaron asma fig 48.

Asma infantil VS LT

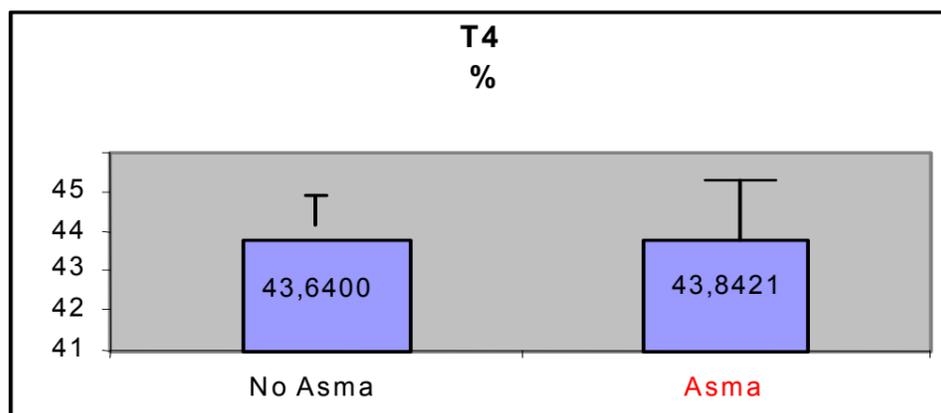


P: 0,703

118

Figura 49: Asma infantil vs Linfocitos T a los 18 meses de edad

Asma infantil vs LT4



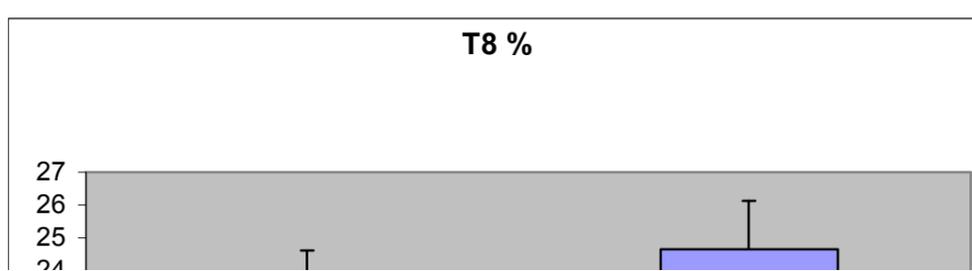
P: 0,327

117

Figura 50: Asma infantil vs Linfocitos T4a los 18 meses de edad.

La inmunidad celular, los linfocitos T, T4 y absolutos se mantienen igual en los dos grupos. Los T8 inician una elevación en el grupo que evoluciona a asma (Fig.49, 50, 51).

Asma infantil vs LT8



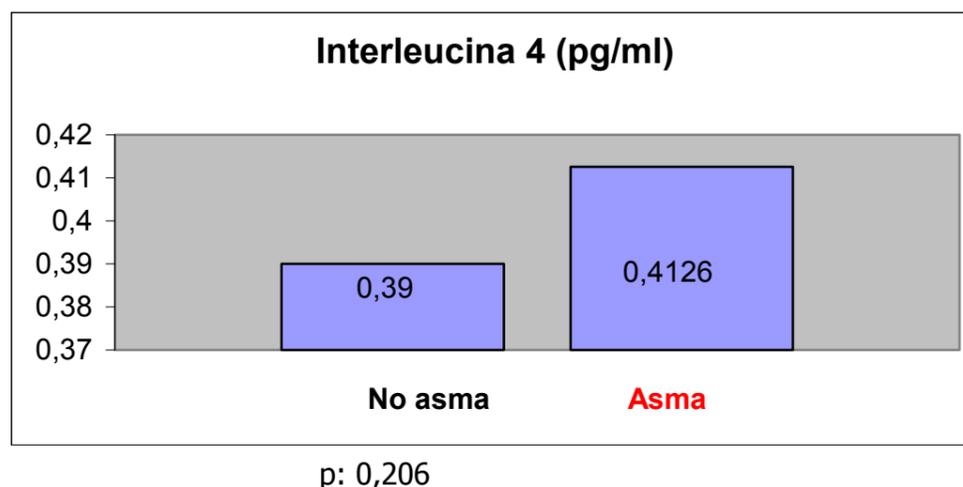
Asma infantil vs Interleucina-4

Fig 52- Asma infantil vs Interleucina 4 a los 18 meses de edad

Los valores de IL-4 a los 18 meses, en los niños con asma son algo menores que al año de edad, media de 0,4126 pg/ml, en los que no presentaron asma son de 0,39 pg/ml (p=0,206).

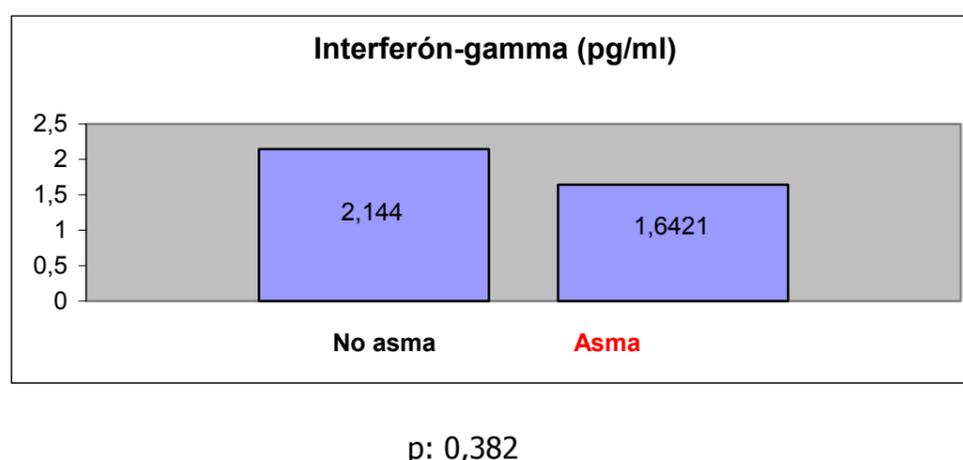
Asma infantil vs interferón-gamma

Fig 53: Asma infantil vs Interferón gamma a los 18 meses de edad.

Los valores de IFN-gamma son de 2,144 pg/ml en los que no presentaron asma y de 1,64 pg/ml en los que si.

3. PRUEBAS CUTÁNEAS de los niños con Bronquiolitis (Grupo A) Prick test:

A 29 niños, 22 niños con clínica de bronquitis de repetición y 7 niños con valores elevados de Ig E total sin asma, se les realizó un Prick test a huevo, leche y a los neuroalergenos más frecuentes entre los 6 y 9 meses de vida. 28 niños fueron negativos y un niño presentó un Prick positivo al huevo (ovoalbumina).

4. Uni CAP: Ig E específica (Grupo A): en el mismo niño que presentaba un prick positivo para el huevo se confirmó unos valores de Ig E específica altos a los 6 meses (Ig E clara huevo 10,3 KUI/L, Ig E a yema de huevo 6,2 KUI/L, valores normales < 0,35). En los otros 28 niños la Ig E específica a los neuroalergenos más frecuentes fueron negativas. La prueba se realizó en el suero de la extracción realizada a los 6 o 12 meses de vida como se muestra en la tabla 37.

Edad	Nº niños	Clínica	
6m	6	Asma	3
		Ig E total elevada	2
		Asma + Ig E elevada	1
12m	23	Asma	10
		Ig E total elevada	5
		Asma + Ig E total elevada	8

Tabla 37: Determinación de Ig E específica en los niños del estudio

Resultados

RESULTADOS ANALÍTICOS DEL GRUPO B (NIÑOS SANOS)

VALORES DE IL-4 Y IFN GAMMA NIÑOS DE 1-8 SEMANAS

	N	Media
Interleucina 4 pg/ml	18	0,39 pg/ml
Interferón gamma pg/ml	15	1,6266 pg/ml

VALORES DE IL4 Y IFN GAMMA EN NIÑOS DE 5-7 MESES

	N	Media
Interleucina 4 pg/ml	17	0,39 pg/ml
Interferón gamma pg/ml	17	1,9352 pg/ml

VALORES DE IL4 Y IFN GAMMA EN NIÑOS DE 10-14 MESES

	N	Media
Interleucina 4 pg/ml	16	0,39 pg/ml
Interferón gamma pg/ml	19	1,9526 pg/ml

VALORES DE IL4 Y IFN GAMMA EN NIÑOS DE 16-20 MESES

	N	Media
Interleucina 4 pg/ml	19	0,39 pg/ml
Interferón gamma pg/ml	17	1,8588 pg/ml

Discusión

5.1 – DISCUSIÓN DEL METODO

5.1.1 Selección de la muestra.

En la muestra de niños del GRUPO A, se incluyó a todos aquellos que ingresaron en el Hospital por una bronquiolitis aguda VRS+, independientemente de la gravedad del cuadro que presentaban, y cuyos padres aceptaban entrar en el estudio.

El grupo de niños problema estaba formado inicialmente por 65 niños (edad media 3 meses, 8 días a 7 meses) que ingresaron en el Hospital Sant Joan de Déu por su primer episodio de bronquiolitis VRS positivo, desde diciembre de 1997 hasta febrero de 1998.

Durante su ingreso se informaba a la familia de la existencia de este estudio y se les proponía la participación en el mismo. De estos, 50 niños completaron el seguimiento durante 2 años. El seguimiento se realizaba en el servicio de Inmunoalérgia, donde acudían a control clínico cada 3-4 meses y control analítico cada 6 meses.

Finalmente, solo se incluyeron los que cumplían los criterios de inclusión y no presentaban ninguno de los criterios de exclusión.

Dos motivos confirman que la muestra de niños estudiados es una representación adecuada de la población de lactantes menores de 8 meses que padecen bronquiolitis por VRS:

El primero, el hecho de que el Servicio de urgencias del Hospital Sant Joan de Déu es el centro que realiza mayor número de urgencias en el área metropolitana de Barcelona (71658 y 72210 visitas médicas atendidas en 1997 y 1998 respectivamente). La mayoría de niños por la gravedad de la dificultad respiratoria o por la corta edad, consultaban al servicio de urgencias. Es posible que algún niño con bronquiolitis muy leve y de edad mayor de 3 meses no ingresara en el Hospital

El segundo, el hecho de que en nuestra área sanitaria, Barcelona y su área metropolitana, se produjeron unos 12.600 y 23.000 nacimientos respectivamente en el año 1997. De los cuales un 24,6 % nacieron en los meses de epidemia de infección por el virus respiratorio sincitial.

Discusión

En cuanto a la selección de la muestra de niños sanos, (grupo B) nuestra intención fue escoger una muestra suficientemente amplia y homogénea, similar en edad, sexo y número a la muestra de niños de estudio para poder hacer comparaciones fiables entre ambos grupos.

123

El segundo grupo, (grupo B), estaba formado por 80 niños, los cuales se subdividían en 4 subgrupos (B1, B2, B3, B4) de 20 niños cada uno, según las edades: 20 niños de 1 a 8 semanas, otros 20 que tenían entre 5 a 7 meses, otros 20 de 10 a 14 meses y el último de 20, de 16 a 20 meses de edad.

Ninguno de ellos tenían antecedentes familiares o personales de atopia, ni clínica de bronquiolitis o enfermedades sistémicas o crónicas. Estos niños tenían programada una extracción analítica por otro motivo (la mayoría eran análisis preoperatorios), solicitando permiso verbal a la familia, se determinaba en sangre la interleucina 4, el interferón- γ y las moléculas de adhesión (sL-selectina y VCAM-1).

En los 4 subgrupos (B1, B2, B3, B4) se determinó en sangre la interleucina 4 y el interferon gamma, en el último, el subgrupo de los niños de 16-20 meses (B4), se midieron además las moléculas de adhesión (s VCAM-1, sL-selectina) dado que entonces disponíamos del Kit.

No había en el momento del inicio del trabajo, ningún estudio en niños sanos que estableciera unos valores de normalidad de IL-4, IFN- γ , sL-selectina y VCAM-1 en este grupo de edad. Este segundo grupo permitió calcular los valores de referencia en suero de estos cuatro parámetros. Por ello solo se les realiza una determinación puntual y no se hacía un seguimiento de estos niños.

Los valores de referencia de la IL-4, establecidos en este grupo B fueron inferiores al límite inferior de la metodología empleada, en todos los niños de este grupo. En cambio en el grupo problema (A) los valores fueron variando, y el método fue útil para la determinación de IL-4 e IFN-gamma.

MATERIAL

GRUPO A



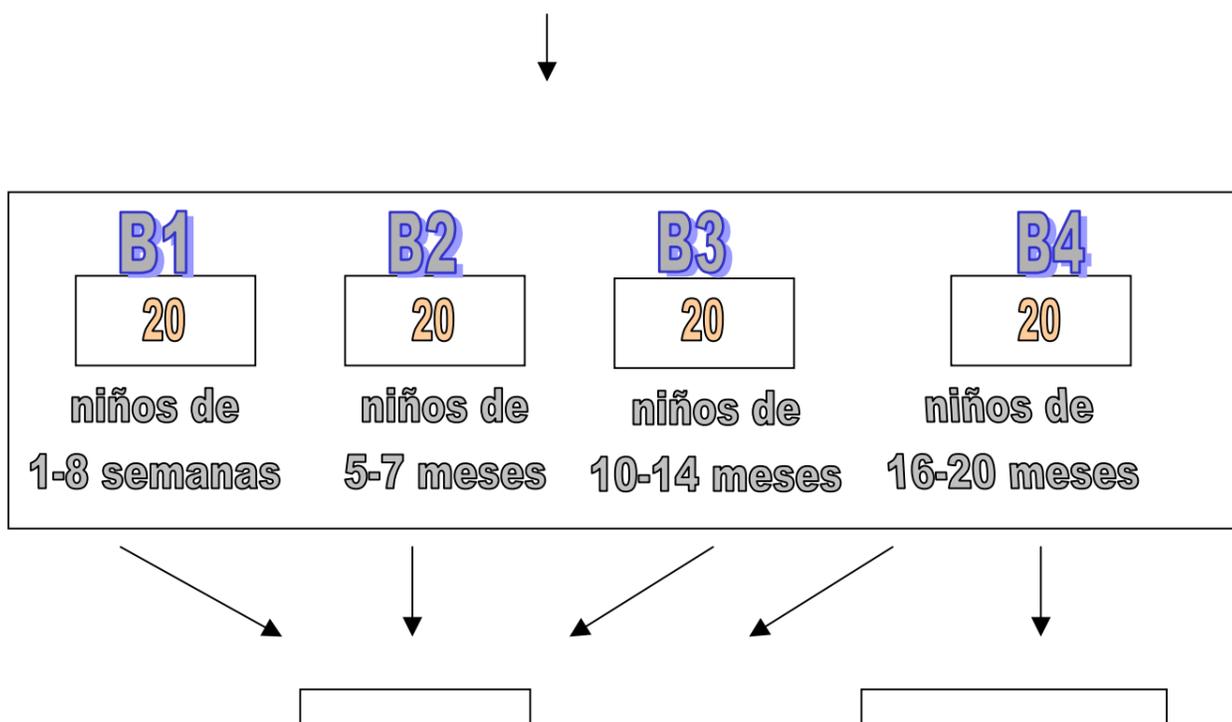
GRUPO B

Figura 10 Esquema del grupo de estudio (niños con bronquiolitis). Grupo A

Grupo para calcular valores de referencia:

No seguimiento clínico

80 niños sanos



5.2- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS. Descripción de la muestra.

5.2.1 SEXO: La bronquiolitis afecta a niños menores de dos años y parece haber un ligero predominio en los varones (1,5:1).^(42,51,52,53,54) La muestra de niños con bronquiolitis la componían al inicio 65 niños de los cuales 38 (58,4%) eran niños y 27 niñas (41,5 %).

- De los 22 niños que presentaron criterios de asma infantil en los 2 años de evolución, un 68,1% (n=15) eran niños y 31,8% (n=7) niñas, encontramos una mayor prevalencia de asma del lactante en varones, con una relación varón /mujer de (2,14:1), mientras que los que no presentaron asma la relación era de 1:1,15 aunque no se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos (p= 0, 105). La relación varón/mujer ha sido mayor que en la mayoría de estudios.

En el estudio realizado por Alba et al en 259 niños⁽⁵³⁾ fueron diagnosticados de asma del lactante 31 (12%), encuentran una mayor prevalencia de asma del lactante en varones, con una relación varón /mujer de 1,6/1, aunque no se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos (p =0,37). En otros estudios el ratio varones /mujeres va entre 1,25/1 y 1,58/1.^(6, 55,56,57)

5.2.2 EDAD DE PRESENTACION DE LA BRONQUIOLITIS VRS

- La edad media de nuestro grupo era de 76,4 días (2,2 meses) (de 8 a 210 días). Edad media de los niños 77 días y la de las niñas 81 días. Siendo todos menores de un año (de 0 a 2 meses un 60 %, de 3 a 5 meses un 32 %, de 6 a 7 meses un 4%).

En el estudio realizado por Paricio et al en 158 niños afectados de bronquiolitis, la edad media fue de 6,3 ± 5,2 meses.⁽⁵⁴⁾ En comparación con otros estudios, la edad de presentación de la bronquiolitis de nuestra muestra, era mucho menor.^(6,53,56)

5.2.3 ANTECEDENTES FAMILIARES DE ATOPIA

El riesgo de sensibilización alérgica y desarrollo posterior de síntomas de atopia es debido a una susceptibilidad genética como lo indica una historia familiar positiva. Estudios de genética molecular sugieren que el fondo genético del fenotipo atópico es complejo y varios genes están involucrados en la producción de Ig E y en las manifestaciones alérgicas de la piel y los síntomas de la vía aérea.⁽¹⁹⁾

Discusión

El asma es una enfermedad de predisposición genética con una elevada prevalencia comparado con otras enfermedades pulmonares. Esta complejidad sugiere una herencia poligénica. Se ha identificado el locus de la atopia en los cromosomas 5, 6 11 y 14. Además en un estudio multicéntrico se han identificado varios marcadores en el cromosoma 12 que se asocian a altas concentraciones de Ig E.^(19,58,59)

- El 46% de los niños de nuestro grupo de estudio tenían antecedentes familiares de primer grado (padres y/o hermanos) de atopia (rinitis, asma o dermatitis). Esta elevada incidencia es debida a que aceptaban entrar en este seguimiento aquellas familias que tenían algún familiar con atopia. En un 28% (n=14) la madre tenía asma o rinitis o dermatitis atópica. El riesgo de asma es mayor cuanto más carga familiar hay, principalmente si están los 2 padres afectados, en nuestro grupo solo había 1 niño con ambos padres afectados.

La historia de asma en familiares de primer grado es el factor de riesgo mejor conocido para presentar episodios recurrentes de sibilancias o asma.^(4,7, 53,55,60)

Los niños nacidos de familias con uno o más miembros de primer grado con manifestaciones de atopia tienen un mayor riesgo de desarrollar síntomas de atopia durante la primera infancia.⁽⁶⁾

Según Kjellman M et al, la incidencia de enfermedad atópica en los niños en relación a su historia familiar: Cuando lo dos padres eran atópicos, el 42,9% de sus hijos eran atópicos, 19,8% de los niños si solo lo era un padre, 16,6% de los niños que tenían un hermano afecto.⁽⁶¹⁾

Según el estudio realizado por Korppi et al, el principal factor de riesgo para desarrollar sibilancias en los años posteriores a la bronquiolitis por VRS, es la constitución atópica del niño y la historia familiar de asma.⁽⁴⁾ En cambio en otro

Discusión

- En nuestro estudio, hemos encontrado que el tener un hermano mayor afecto de enfermedad atópica conlleva un mayor riesgo de presentar asma infantil ($p = 0,127$), aunque no es estadísticamente significativo. El hecho de que la madre y /o el padre tuviera enfermedad atópica no aumentó el riesgo de asma infantil en nuestro estudio.

5.2.4: FACTORES AMBIENTALES DE RIESGO:

1-Exposición al humo del tabaco

El papel del tabaquismo pasivo como factor de riesgo de presentar enfermedades de las vías respiratorias bajas parece demostrado en numerosos trabajos publicados al respecto, abundante bibliografía parece demostrar una relación entre la exposición al humo del tabaco en edades tempranas de la vida y el posterior desarrollo de hiperreactividad bronquial, así como de alteraciones en las pruebas de función respiratoria, infección de vías respiratorias altas y bajas (neumonías, otitis media) y un aumento del número de crisis de asma en niños asmáticos. ^(42,53,58,64,65,66,67)

La exposición al humo del tabaco aumenta el riesgo de bronquiolitis y el riesgo de enfermedad de vías aéreas bajas. El humo del tabaco produce una disminución del movimiento de los cílios, lo cual favorece las infecciones y por lo tanto la infección por VRS y el aumento del paso de alérgenos.

El riesgo es mayor en madres fumadoras que en padres esto puede ser debido a que las madres pasan más tiempo con sus hijos. Sin embargo estudios preliminares han sugerido que hay alteraciones en el desarrollo de los pulmones de los fetos de madres fumadoras durante el embarazo que produce una disminución de la función pulmonar al nacer y altera la reactividad de la vía aérea durante los primeros 10 años de vida. ⁽⁵²⁾

Adler et al, concluyen que la exposición ambiental al tabaco, tanto por tabaquismo materno como paterno, se asocia a alteraciones en las pruebas de función pulmonar en la primera infancia que serían independiente de la infección por VRS; éstas alteraciones se producirían principalmente por compromiso de las pequeñas vías respiratorias. ^(51,65)

Discusión

En un estudio en que se determinaban los niveles en suero de cotinine, el metabolito principal de la nicotina, en niños que ingresaban por un proceso de bronquiolitis VRS+ y en otro grupo de niños sin clínica respiratoria, se encontró que los niveles en suero de cotinine eran mucho mayores en los niños con bronquiolitis aguda (medias de 10,8 ng /ml) comparado con los niños sin clínica respiratoria (media de 3.9 ng /ml) y con los niveles que presentaban 1 mes después de la bronquiolitis (media de 7,4 ng /ml). ⁽⁶⁸⁾

- En nuestro grupo el 58% de los niños estaban expuestos al humo del tabaco tanto en el momento agudo de la bronquiolitis como después. No se analizó si la madre había fumado durante la gestación. A diferencia de la mayoría de autores, ⁽⁵⁸⁾ en nuestro estudio el tener un padre fumador era un factor de riesgo mayor de presentar asma infantil ($p: 0,161$), que si fumaba la madre ($p: 0,200$) o los dos padres, aunque no eran estadísticamente significativos. Tablas 10,11,12.

Para otros autores, tener padres fumadores no mostró una mayor asociación con el riesgo de padecer asma infantil. ^(12, 55,57,63)

2. ANIMALES EN CASA

- Como ya es conocido el animal que produce mayor sensibilización y posteriormente asma infantil es el gato. En nuestro grupo los 2 únicos niños que tenían gato presentaron asma infantil ($p: 0,1$), aunque el Prick y CAP (Ig E específica) a epitelio de gato fueron negativos en ambos. Tabla 13

No había diferencias en la evolución si tenían perro, pájaros o hámster en casa. Tablas 14,15,16,16

5.2.5 ANTECEDENTES PERSONALES: No había diferencias en el tipo de parto, complicaciones perinatológicas, infecciones previas a la bronquiolitis, intervención quirúrgica previa, o tipo de vivienda.

Discusión

Puntuación clínica de Wood-Downes modificada al ingreso

Wood-Downes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Nº de casos	1	1	8	4	14	12	5	3	1	1		n= 50

La gravedad de los pacientes ingresados fue predominantemente de tipo moderado/leve como en otras series. ⁽⁵⁴⁾ Los que ingresaban con una puntuación de leve presentaban además otro criterio de gravedad como ser menor de un mes o haber realizado algún episodio de apnea.

- En nuestro estudio la gravedad clínica obtenida mediante la puntuación de Wood –Downes modificada, no es un parámetro que nos permita predecir cuales van a presenta asma infantil y cuales no (P = 0, 507). Tabla 22

En la revisión realizada por Paricio et al en 150 niños, deducen que determinar la gravedad inicial es útil para predecir la estancia media y es un buen predictor de la presencia de neumonía. ⁽⁵⁴⁾

2-DETECCIÓN DEL VIRUS VRS EN MOCO NASAL

En el 100% se obtuvo muestra para la detección del antígeno del VRS en moco nasal, que fue positiva en todos. En ningún niño se asoció una coinfección por adenovirus, influenza A o B o parainfluenza 3.

3-RADIOGRAFIA DE TÓRAX

- A todos los niños del estudio se les realizó una radiografía de tórax al ingreso, fue normal en 31 niños y patológica en 19(11 (22% con neumonía bacteriana), tabla 23. Los niños con Rx patológica, fueron diagnosticados de neumonía si presentaban consolidación segmentaria en la radiografía de tórax y hemograma– proteína C reactiva compatibles. En la bibliografía se ha encontrado presentar un riesgo de infección bacteriana secundaria, neumonía, por Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae entre un 12– 40 % de los niños afectados de bronquiolitis por VRS. ⁽⁶⁹⁾

132

Discusión

4-TRATAMIENTO ADMINISTRADO

Tratamiento administrado

131

Tratamientos	oxigenoterapia	B2 inh	corticoides orales	corticoides endovenosos	antibiótico (oral o ev)
niños=	50	43	18	4	14
% de casos	100%	86%	36%	8%	28%

En nuestro grupo los niños que evolucionaron a asma recibieron en el momento de la bronquiolitis más tratamiento con salbutamol (p= 0,095) y/o corticoides orales (p= 0,063) que los que no, tablas 24,25.

La fluidoterapia y oxigenoterapia suponen las medidas básicas del tratamiento de las formas moderadas y severas en opinión de muchos autores. ⁽⁵⁶⁾

La administración de broncodilatadores inhalados según otros estudios ⁽⁵⁴⁾ son de utilidad en la bronquiolitis para mejorar los parámetros de situación clínica como frecuencia respiratoria o cardiaca, grado de dificultad respiratoria y saturación de oxígeno. En estos años pasados se ha llegado a la utilización masiva de los broncodilatadores inhalados (del 75% al 100% según equipos). Para Dobson et al los broncodilatadores no mejoran los parámetros clínicos, no reducen los ingresos ni la estancia media. ⁽⁷⁰⁾

Los corticoides sistémicos no tienen ningún aval en la literatura publicada, en nuestra serie se ha administrado en un 8%, similar a otros porcentajes de uso encontrados en la literatura entre un 10% y el 37%. ⁽⁵⁴⁾

El empleo de antibióticos se restringió a los casos en que existía evidencia de infección bacteriana. No hubo difeferncias en la evolución si recibieron antibiótico o no (p= 146) tabla 27.

 Discusión

5.2.7 EVOLUCION CLINICA DESPUÉS DEL ALTA DEL GRUPO DE ESTUDIO(A)

Numerosos estudios han descrito una asociación entre la infección por VRS en edades tempranas de la vida y el desarrollo posterior de hiperreactividad bronquial. Las evidencias demuestran que esta asociación es cada vez más clara y que el VRS parece ser uno de los factores ambientales que de forma aislada predispone al desarrollo posterior de asma. ^(62,71)

Los niños que han tenido una infección respiratoria de la pequeña vía aérea por VRS tienen hasta 4,3 veces más probabilidad de desarrollar sibilancias recurrentes a los 6 años de edad, en comparación con niños sin esta infección. Este riesgo disminuye de manera progresiva y deja de ser estadísticamente significativo a los 13 años de edad.

Singurs et al, evaluaron de forma prospectiva a 47 lactantes hospitalizados por bronquiolitis secundaria a VRS y demostraron que la infección por VRS se asoció de forma significativa tanto a asma como a otras formas de obstrucción de la vía aérea y también a sensibilización con alérgenos. Esta asociación persistió hasta los 7 años de edad. ⁽⁷¹⁾

En otros estudios de Strannegard et al, desarrollaron asma el 22% de los 47 niños afectos de bronquiolitis mientras que solo 1% de los 94 niños control. El VRS es un factor de riesgo independiente de asma y sensibilización, pero la combinación bronquiolitis VRS y herencia para asma o atopia incrementa el riesgo de desarrollar asma. ⁽⁶³⁾

En el estudio realizado por Pullan and Hey, encontraron que en los 10 años de seguimiento a 130 niños con bronquiolitis VRS positivo, 55 (42%) tuvieron sibilancias posteriores en comparación con 21(19%) de los 111 niños del grupo control. ⁽⁶⁰⁾

En 7 años de seguimiento Mok and Simpson, encontraron que sibilancias en 47% de los niños ingresados por bronquiolitis VRS+, en comparación de un 17% del grupo control. ⁽⁶⁰⁾

Kuikka et al, encuentran que un 25% de los 68 niños estudiados por bronquiolitis antes de los 2 años de edad, presentan sibilancias hasta los 4,5-6 años de edad, la característica más común de estos niños con asma era su constitución atópica. ^(6,72)

 Discusión

Se ha observado que las sibilancias tienen tendencia claramente a disminuir al aumentar la edad del niño. ⁽⁶⁾ En el estudio realizado por Korppi et al, las sibilancias repetitivas fueron más frecuentes (un 76%) entre el 1er y 2º año de edad. Mientras que en el 2 y 3er año un 58 % de este 76 %, todavía tenía episodios de sibilancias. ⁽⁴⁾ En otros estudios, la proporción de niños que tenían sibilancias fue del 57% entre 2-3 años y un 38 % a los 3-4 años. Estos resultados son similares a otros estudios en que el 40-50 % de los niños con bronquiolitis durante la infancia tenían sibilancias posteriores. ⁽⁵⁾

Numerosos estudios de seguimiento aseguran que entre un 42-75% de los niños ingresados por bronquiolitis sufrirán bronquitis posteriormente, y muchos de ellos tienen un riesgo aumentado de desarrollar asma durante la adolescencia. ^(4,73)

En el estudio realizado por Mejias y Ramillo ^(72,73) concluyen "cada vez parece más clara la relación entre infección grave por VRS y el posterior desarrollo de hiperreactividad bronquial en la infancia. Sin embargo, no está claro si es la infección por VRS por sí sola la que ocasiona las secuelas a nivel de la función pulmonar, o si es la asociación con alteraciones previas en la función pulmonar o con atopia".

Según los estudios de Martínez et al ⁽⁷³⁾ la infección por VRS se muestra en forma de bronquiolitis en aquellos lactantes que ya tienen, desde el nacimiento, ciertas anomalías facilitadoras. Estas anomalías pueden ser transitorias o permanentes y, por ello los cuadros de sibilancias se repiten ante la llegada de variados estímulos, principalmente infecciosos.

En cambio según Chavez-Bueno et al ⁽⁷⁵⁾ en un modelo animal han demostrado que la infección por VRS ocasiona cambios estructurales pulmonares que son objetivables hasta pasadas 10 semanas de la infección aguda.

- En nuestro estudio el 44% (n=22) de los niños presentaron a los 2 años

5.2.8-RESULTADOS ANALÍTICOS DEL GRUPO A

Durante la bronquiolitis

En la patogénesis del asma la respuesta inmunitaria adaptativa está regulada por linfocitos T. En los individuos con fenotipo atópico existe un desequilibrio entre las dos vías de la inmunidad celular mediada por los linfocitos T helper (cooperadores) (TH1/TH2) con una respuesta anormal de tipo TH 2. ⁽⁷¹⁾

Inmunidad humoral

1-Linfocitos B e Inmunoglobulinas G, M, A, E

- En nuestro grupo de estudio, se objetivó en los análisis efectuados en el momento de la bronquiolitis aguda, en los niños que después presentaron asma infantil, un patrón analítico con elevación de los valores de los linfocitos B ($p=0,775$), es decir de la inmunidad humoral. Esto se correlacionó con una elevación en suero de las inmunoglobulinas G ($p=0,268$), A ($p=0,102$) y sobretodo de Ig M ($p=0,014$) esta última estadísticamente significativa, en cambio todavía no había diferencia en los valores de la Ig E ($p= 0,739$). (Figuras 15, 16, 17, 18, 26, 27, 28)

En el estudio de Strannegard et al se determinó las serologías Ig G e Ig A anti VRS al año de edad a 45 niños que estuvieron ingresados por una bronquiolitis VRS, con edad media de 4 meses, y 90 niños control. Encontraron en el grupo que había padecido una bronquiolitis VRS en comparación con el grupo control, unos valores altos de Ig A ($p=0,13$), al igual que en nuestro grupo, aunque no estadísticamente significativos. Los títulos de IgG anti VRS, al año de edad, fueron similares en ambos grupos. En el seguimiento que se realizó a estos niños; se objetivó que los que posteriormente presentaron una sensibilización a asma a los 3 años de edad, presentaban unos títulos elevados de Ig A, esta vez estadísticamente significativos ($p=0,015$). Estos datos sugieren que la infección por VRS causando bronquiolitis está asociada con una fuerte respuesta de anticuerpos Ig A más que en las infecciones leves. La formación de anticuerpos Ig A, al igual que la Ig E, depende de las células TH2, estos resultados nos constatan la inusual capacidad del virus VRS para activar el sistema de las células TH2. ⁽⁶³⁾

La respuesta a la infección por VRS se caracteriza por una respuesta transitoria de Ig M, un aumento de la Ig A que dura de unas semanas a meses y posteriormente aumentan las Ig G. Aunque la relación causal entre la infección por VRS y desarrollo tardío de alergia no está establecido, parece que los hechos descritos podrían explicar una relación probable.

Había una asociación significativa entre una fuerte respuesta Ig A anti VRS y un desarrollo tardío de sensibilización alérgica. Sugiriendo que una grave infección por VRS en el lactante menor de 6 meses predispone a un desarrollo de alergia respiratoria. ⁽⁶³⁾

Al igual que en nuestro estudio, Oymar et al analizaron en 25 niños, de 1 a 17 meses, hospitalizados por bronquiolitis los niveles de Ig E. No encontraron diferencias significativas en los valores de Ig E total en el momento de la bronquiolitis aguda, en los niños que después desarrollaban asma (media de 6.5 KU/L) de los que no (media de 2 KU/L). ⁽⁷⁷⁾

- En nuestro grupo los valores medios de Ig E total en el momento de la bronquiolitis es de 15,2 KUI/L en los que no presentaron asma y de 15,9 KUI/L en los que si ($p: 0, 739$).

Toms et al encontraron bajas concentraciones de Ig E en 71 suero de niños afectados de bronquiolitis, de 0,4 a 33 IU/ml. ⁽⁷⁸⁾

En algunos estudios se ha encontrado que existe una relación entre la Ig E y la infección por VRS, Welliver estudió la relación entre Ig E anti VRS y el desarrollo posterior de sibilancias recurrentes y/o asma. Encontrando que la magnitud de la respuesta de Ig E frente al VRS en el momento agudo de la bronquiolitis es un factor pronostico indicador del desarrollo posterior de sibilancias recurrentes. ⁽⁷²⁾

2- Eosinófilos

Oymar et al, analizaron en 25 niños, de 1 a 17 meses, hospitalizados por bronquiolitis los niveles de eosinófilos. No encontraron diferencia significativas en el recuento de eosinófilos totales durante la bronquiolitis aguda, en los niños que después desarrollaban asma $0,10 \times 10^9/L$ y $0,09 \times 10^9/L$ en los que no. En conclusión este estudio sugiere que los valores al ingreso de eosinófilos no pueden ser predictores de desarrollo de asma cuando se determinan en los niños que ingresaban por su primer episodio de bronquiolitis. ⁽⁷⁷⁾

Discusión

- Por lo tanto los niños de nuestro estudio (grupo A) que van a presentar asma infantil, en el momento de la bronquiolitis, tienen una respuesta de predominio humoral, poco efectiva para controlar la infección viral. Tabla 30

Inmunidad celular

1-Linfocitos T, T4 y T8

- Así mismo se encontró, en nuestro estudio, un descenso en la producción de linfocitos T tanto los T4 como T8, es decir un descenso de la inmunidad celular en el momento de la bronquiolitis aguda, en los que presentaron posteriormente asma infantil. El valor medio de los linfocitos T en el momento de la bronquiolitis fue de 57,7% en los que presentaron asma y 63,4% en los que no ($p=0,710$), los T4, 41,81 % en los que presentaron asma y 48,04 % en los que no ($p= 0,864$), y los T8 22,47% en los que presentaron asma, 23,91% en los que no ($p= 0, 806$). (Figuras 21, 22, 23, 29, 30, 31)

2-Interleucina 4 e interferon gamma

- En nuestro estudio, en el momento de la bronquiolitis aguda, la producción de IL-4 ($p=0,128$) era igual en los dos grupos, los que evolucionaron a asma con valores medios de 0,390 pg/ml y los que no 0,3989 pg/ml (Figuras 24,32).

- En cambio encontramos una producción de interferon gamma ($p= 0,242$) disminuida en el grupo que posteriormente presentó asma infantil (1,974 pg/ml) y en los que no (2,1137 pg/ml) lo que se correlaciona con el aumento de los linfocitos B (32% en los que presentaron asma y 27% en los que no) y de las inmunoglobulinas (Ig G 4678 mg/L, IgA 301 mg/L, Ig M 659 mg/L). Esto indica que hay un desequilibrio entre las dos vías de la inmunidad celular mediada por los linfocitos T helper (cooperadores) (respuesta TH1/TH2) con una respuesta anormal de tipo TH2 que produce elevación de IL-4 y un descenso del IFN- gamma (Figuras 25,33).

El los últimos años se ha encontrado que variaciones en el porcentaje de producción postnatal de células T mostrado por la producción de IL-4 e IFN-g puede ser asociado con el desarrollo de atopía. ⁽⁸⁰⁾

En el estudio de Borres et al, en 64 niños determinaron niveles en suero de IL-4 e IFN-gamma en niños sanos, desde el nacimiento a los 18 meses. Encontraron valores significativamente más altos de IL-4 a los 3, 6 y 18 meses ($p<0,001$), en los niños que posteriormente presentaron enfermedad atópica. En cambio los valores de IFN-gamma fueron por debajo de los niveles de sensibilidad del método (nivel de detección = 100 pg/L) en todas las muestras que fueron analizadas. ⁽⁸¹⁾

Los niveles de IFN-gamma en células mononucleares de sangre periférica en individuos asmáticos presentan un descenso de la capacidad de producir IFN-gamma. Este se considera que juega un papel central en la función del sistema inmune, como regulador y papel antiinflamatorio en la respuesta inmune. Esta citocina promueve la diferenciación de las células T en T-helper (Th1), activando la función fagocítica y citotóxica en las células inflamatorias, regulando la función de células B en la síntesis de Ig E, frenando su producción y asistiendo a la resolución de la inflamación. ⁽⁴⁸⁾

GRUPO B

- En los 20 niños sanos de 1 a 8 semanas de vida (Grupo B) que se les realizó una determinación en suero de IL-4 e IFN-gamma. Encontramos que en los 20 niños se detectó IL-4 en 18 y IFN-gamma en 15, el valor medio de la IL-4 es de 0,39 pg/ml, y 1,620 pg/ml para el IFN –gamma.

Estos resultados son iguales a los obtenidos en el estudio realizado por Oshima et al donde determinaron los niveles en suero de IL-4 en niños de 1 mes a 10 años, alérgicos y no alérgicos. El límite de detección del ensayo fue de 0,15 pg/ml en suero. IL-4 fue detectado en el 96,3% de los no alérgicos y en el 92,9 % de los alérgicos. Los niveles de IL-4 en niños no alérgicos fueron bastante constantes en las diferentes edades examinadas y todas las muestras fueron por debajo de 1,5 pg/ml y no cambió según la edad. En los niños alérgicos los valores en suero fueron significativamente más elevados principalmente entre los 13 y 24 meses ($p< 0.05$) en comparación con los no alérgicos de la misma edad. Sin embargo muchos de los niños alérgicos principalmente los mayores de 72 meses tenían valores de IL-4 por encima de 1.5 pg/ml. ⁽⁸²⁾

Borres et al analizaron el IFN-gamma en 64 niños, en 49 muestras de suero los valores de IFN-gamma fueron por debajo de la sensibilidad del método. ⁽⁸¹⁾

 Discusión

A los 6 meses de vida

Inmunidad humoral**1-Linfocitos B e inmunoglobulinas G, M, A y E**

- Persiste en nuestro grupo A, tabla 31, el predominio de respuesta inmune humoral, con elevación de los linfocitos B, y de las inmunoglobulinas que estos producen, principalmente de Ig G ($p=0,916$) y Ig A ($p= 0,081$) en el grupo de niños que posteriormente presentaron asma aunque este aumento no es estadísticamente significativo. Encontramos que el valor medio de la inmunoglobulina M ($p=0,361$) se ha igualado, a los 6 meses de vida, en los que presentaron asma y en los que no, puesto que la infección por VRS produce un aumento transitorio de esta inmunoglobulina M (Fig. 15, 16, 17, 20).

- La inmunoglobulina E a los 6 meses de vida en nuestros pacientes, esta igual tanto en los que posteriormente presentaron asma (28,6 KUI/L) como en los que no (30,19 KUI/L) ($p=0,713$), pero llama la atención que el valor medio de los dos grupo está por encima de los valores de referencia para la Ig E de esta edad que es 0,3 a 17 KUI/L (Fig. 18). En cambio en el estudio de Renzi ⁽⁸³⁾ encuentra que a los 5 meses después de haber padecido una bronquiolitis por VRS, el 86% de los 26 niños del estudio tenían niveles de Ig E dentro de lo normal, comparado con el 91 % de los niños sanos ($P=NS$).

2-Eosinófilos

Renzi et al encuentran un aumento significativo del recuento de eosinófilos totales en sangre a los cinco meses de haber padecido una bronquiolitis ($0,37 \times 10^6 / \text{mm}^3$) al compararlos con los valores de eosinófilos totales de los mismos niños en el momento agudo de la bronquiolitis ($0,17 \times 10^6 / \text{mm}^3$) ($p<0,05$), lo que se interpretaría como una activación prolongada TH2. ⁽⁸³⁾

- En nuestro grupo no hay diferencias en el valor medio de los eosinófilos totales de los que presentaron asma $0,431 \times \text{mm}^3$, de los que no $0,406 \times \text{mm}^3$ ($p=0,823$) y tampoco en el porcentaje 4,15% los que presentaron asma y 3,85% en los que no ($p= 0,217$).

 Discusión

3-proteína Cationica Eosinófila (PCE)

139

- En el grupo A hay un aumento de la proteína cationica eosinófila, a los 6 meses de edad, por estimulación de las interleucinas TH2, la IL-5 atrae eosinófilos y estos al degranularse liberan la PCE, en los niños que presentaron asma con un valor medio de 11,2 ug/l, en comparación con los que no la tuvieron con un valor de 8,3 ug/L. (Fig. 20)

Esta elevación se mantiene al año de edad, valor medio en los niños asmáticos de 12,6 ug/L y en los que no 9,8 ug/L ($p= 0,122$). Esto indica el patrón de respuesta inmune que predispone a la atopia tipo TH2 con descenso de la función TH1.

En el estudio realizado por Koller et al, los niños que presentaban sibilancias tenían unos valores medios de PCE más altos que los que no tenían sibilancias. Además si el valor de la PCE era $> 20 \text{ ug/L}$ tenían con mayor frecuencia asma en el primer año de vida que los que tenían valores menores de 20. Los valores de PCE $>20 \text{ ug/L}$ predice el desarrollo de asma infantil con una sensibilidad 92.3% y especificidad del 95%. ⁽⁸⁴⁾ En nuestro grupo 8 niños presentaron valores $>$ de 20 ug/L, todos ellos presentaron asma infantil.

En otro estudio los niveles en suero de PCE descienden de forma significativa con respecto al tiempo después de la bronquiolitis. Además niveles en suero altos de PCE durante la fase aguda de la bronquiolitis es un predictor específico pero insensible de sibilancias después de la bronquiolitis. Bajos niveles no excluye de sibilancias posteriores. ⁽⁷³⁾

Oymar et al analizaron en 25 niños, de 1 a 17 meses, hospitalizados por bronquiolitis los niveles de proteína cationica eosinófila. No encontraron diferencias significativas en los valores de proteína cationica eosinófila medias de 8,0 $\mu\text{g/L}$, en los que desarrollaban asma y 12 $\mu\text{g/L}$ en los que no. ⁽⁷⁷⁾

Inmunidad celular

1-Linfocitos T, T4 y T8

- La inmunidad celular a los 6 meses de edad, persiste baja en aquellos niños que posteriormente presentaron asma, con unos valores de linfocitos T (62,7%) y T4 (44,8%) aunque no estadísticamente significativos. Los linfocitos T8 se han igualado en los dos grupos ($p=0,930$) (Fig. 36, 37, 38).

2-Interleucina 4 e interferon gamma

- En el grupo A, hay un descenso de la producción de interferon gamma en los niños que presentaron asma con valor medio de 1,68 pg/ml, en comparación con los que no 2,15 pg/ml ($p= 0,50$), lo que indica activación de la vía de los TH2 (Fig 40).

En el estudio de Renzi et al, los niños con asma posible o probable tuvieron una producción de IFN- γ menor en el momento de la bronquiolitis ($p: 0,02$) y una tendencia a una producción menor a los 4,9 meses comparados con los que no presentaron asma ($p: 0,08$).⁽⁸⁶⁾

La IL-4 es esencial en el desarrollo de la enfermedad alérgica, porque ésta estimula a los linfocitos B la producción de Ig-E específica frente a antígenos. La secreción de citocinas por las células TH2 produce el efecto de aumentar la inmunidad humoral (Ig E) induciendo la respuesta alérgica, mientras que hace descender la inmunidad celular población TH1 encargada de la defensa antiinfecciosa.⁽²³⁾

- En nuestro grupo a los 6 meses de vida presentan unos valores en suero más altos de interleucina 4 ($p= 0,120$) los niños que hicieron asma (0,44 pg/ml) que los que no (0,39 pg/ml) (Fig. 39).

Los niveles aumentados de IL-4 sugieren que los niños atópicos muestran activación preferencial de los linfocitos Th2.⁽⁴⁸⁾

En el estudio realizado por Renzi P et al, a 26 niños afectados de bronquiolitis se determinó al inicio y a los 5 meses la IL-4 en plasma. Los niveles de IL-4 en plasma aumentaron significativamente a los 5 meses comparados con los niveles en el momento de la bronquiolitis ($p<0,05$), pero no había diferencias respecto a los niños sanos de esa misma edad.⁽⁸³⁾

Renzi P. et al analizaron en 32 niños hospitalizados por bronquiolitis y en un subgrupo de 19 la producción por las células mononucleares de IFN- γ e IL-4. La producción de IL-4 no presentaba diferencias entre los dos grupos.⁽⁸⁶⁾

GRUPO B

- En los 20 niños de 5 a 7 meses se detectaron valores en suero de IL-4 e IFN-gamma en 17 niños, el valor medio de IL-4 es de 0,39 pg/ml, en cambio inicia un aumento los valores de IFN-gamma, media de 1,935 pg/ml.

Al año de edad

Inmunidad Humoral

1-Linfocitos B e inmunoglobulinas G, M, A y proteína cationica eosinófila

- En nuestro grupo al año de edad, tabla 32, todavía encontramos una elevación de los linfocitos B (27%) (Fig 42), Ig G (7102,05 mg/L), A (430 mg/L) M (936,6 mg/L) en los niños que presentaron asma aunque no son estadísticamente significativas.

- También se mantiene la elevación que había iniciado a los 6 meses de edad, de la proteína cationica eosinofila (12,66 ug/L) (Fig 41) en los que presentaron asma en comparación con los que no (9,88 ug/L) ($p= 0,122$).

Inmunidad Celular

1-Linfocitos T, T4, T8

- En cambio los linfocitos T, T4, T8 y LT absolutos al año de vida, tienen valores medios iguales en los que posteriormente presentaron asma y en los que no (Fig. 43, 44, 45).

Discusión

GRUPO B

En los 20 niños entre 10 y 14 meses de edad, sanos, se obtuvieron valores de IL-4 en 16 de ellos con una media de 0,39 pg/ml, en 19 sueros se detectaron IFN-gamma con un valor medio de 1,952 pg/ml.

A los 18 meses

Inmunidad humoral

1-Linfocitos B e inmunoglobulinas G, M, A y E

- Todavía predomina la inmunidad humoral con elevación de la Ig G, Ig A, y encontramos una elevación ya de la Ig E total en el grupo de niños que desarrollaran asma. Tabla 33.

La cantidad de Ig E total en suero depende del control genético de la producción de Ig E, del estímulo alérgico y del desbalance inmunológico con predominio TH2.

El principal marcador de la temprana sensibilización a alérgenos en niños genéticamente predispuestos es tener elevados niveles de Ig E en suero. ⁽⁷²⁾

Inmunidad celular

1-Linfocitos T, T4, T8

- La inmunidad celular, los linfocitos T, T4 y absolutos se mantienen igual en los dos grupos. Los T8 inician una elevación en el grupo que evoluciona a asma (Fig.49, 50, 51).

2-Interleucina 4 e interferon gamma

- Los valores de IL-4 en los niños con asma son algo menores que al año de edad, media de 0,4126 pg/ml, en los que no presentaron asma son de 0,39 pg/ml ($p=0,206$). Al igual que Borres et al donde después del pico de los 6 a 9 meses encuentra un descenso de los valores en suero de la IL-4 en los niños que presentaron asma (Fig. 52) ⁽⁸¹⁾

Discusión

- Los valores de IFN-gamma son de 2,144 pg/ml en los que no presentaron asma y de 1,64 pg/ml en los que si (Fig. 53).

3-Moléculas de adhesión

Molécula de adhesión vascular-celular 1 (sL VCAM-1) y sL Selectina

Se ha demostrado in vitro que el VRS induce la expresión de la molécula de adhesión intercelular 1(ICAM-1) de las células del epitelio respiratorio y produce la adhesión de neutrófilos y eosinófilos en un cultivo de células del epitelio respiratorio, por un mecanismo dependiente de ICAM-1. ⁽⁸⁷⁾

Oymar K et al realizaron un estudio para establecer los valores circulantes de moléculas de adhesión VCAM-1 y L-selectina en niños con asma aguda, asma estable y 22 niños de 1 a 17 meses ingresados por una bronquiolitis aguda comparándolos con 9 niños control no atópicos. Los niños con bronquiolitis aguda tuvieron valores más altos en suero de soluble VCAM-1 (s-VCAM-1) (**1637** ug/l versus 1019 ug/l en los niños control: $p < 0.01$) y L-selectina (**2041** ug/l versus 1664 ug/l en los controles; $p < 0.05$). Estos datos sugieren diferentes valores en las moléculas de adhesión circulantes en niños pequeños con crisis de asma o con periodo intercrisis o con bronquiolitis aguda lo cual puede reflejar diferencias en el proceso inflamatorio de estas enfermedades pulmonares obstructivas. VCAM-1 parece contribuir al reclutamiento de las células T y de los eosinófilos en el tejido inflamatorio. ⁽⁸⁷⁾

Las características del asma son la inflamación y la hiperrespuesta de la vía aérea. La migración de las células inflamatorias (linfocitos, monocitos y eosinófilos) desde la circulación sanguínea a la vía aérea y pulmones, es dependiente de la interacción con las moléculas de adhesión. Fiscus et al, demostraron el papel de la L-selectina en la migración de los linfocitos desde la sangre hacia los pulmones durante la respuesta inflamatoria de la alergia. ⁽⁸⁸⁾

Los resultados de las moléculas de adhesión circulantes tanto en asma como en otros procesos inflamatorios pulmonares han de ser interpretados con precaución

Discusión

El papel de las moléculas de adhesión en la respuesta inflamatoria de la bronquiolitis permanece indeterminada. ⁽⁸⁷⁾

- En nuestro estudio encontramos que a los 18 meses de edad no hay diferencia entre los valores medios de la sL selectina en suero entre los niños que padecieron bronquiolitis (2377,09 ng/ml en los que no presentaron asma, vs 2082,80 ng/ml en los que presentaron asma) (p=NS). En cambio los valores son significativamente mas elevados que en el grupo de niños sanos grupo B. Tabla 36

GRUPO B

Interleucina 4 e Interferón gamma

- Los valores de IL-4 en los 20 niños sanos de 16 a 20 meses fueron de 0,39 pg/ml. Los valores de IFN-gamma se mantenían en 1,85 pg/ml.

Moléculas de adhesión

SL-selectina

- No hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de la SL selectina entre los niños del grupo A, tanto los que no presentaron asma 2377,0952 ng/ml como los que si la presentaron 2028,0 ng/ml (p=NS). En cambio al comparar los valores del grupo A con los del Grupo B encontramos una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de niños sanos B con un valor medio de 1364,7059 ng/ml con los que no presentaron asma y también con los que si con una p= 0.001. Fig 14

Kotecha et al encontraron una elevación de los valores de sL selectina en el lavado broncoalveolar en los niños prematuros que desarrollaron enfermedad crónica pulmonar. Estos resultados sugieren que hay un tráfico persistencia de leucocitos en los niños que desarrollan enfermedad crónica pulmonar y esto puede tener un papel importante en la patogenia de esta enfermedad. ⁽⁹¹⁾

Oommen et al encuentran una elevación en suero de la sL-selectina en niños precolares con sibilancias virales, en comparación con el grupo control. Lo que sugiere que los procesos de sibilancias virales en los niños preescolares están asociados con el sistema de activación de neutrofilos. Este sistema es el primer paso para el desarrollo de neutrofilia pulmonar. ⁽⁹²⁾

En el periodo neonatal Giannaki et al encontraron unos valores bajos de sL-selectina y elevados de sE-selectina lo que sugiere una inmadurez y un descenso en la función de los leucocitos y una más específica activación del endotelio. ⁽⁹³⁾ Ballabh et al concluyen que unos valores bajos de sL-selectina en prematuros de <30 semanas con síndrome de distres respiratorio puede ser un indicador de evolución a displasia broncopulmonar. ⁽⁹⁴⁾

s VCAM-1

- En cambio no había diferencias en los valores medios de s VCAM-1 de niños sanos, 1726,66 ng/ml, no asmáticos 1512,13 ng/ml y niños que presentaron asma infantil 1482,50 ng/ml (p= 0,306). Tabla 35

En el estudio de Hamzaoui et al en adultos con asma encuentran una elevación en suero de sVCAM-1 en pacientes asmáticos en comparación de los valores en personas sanas. Concluye que el sVCAM-1 puede ser útil en la monitorización de la actividad de la enfermedad asmática. ⁽⁹⁵⁾

A diferencia de nuestro estudio Tang et al encuentran en 20 niños asmáticos unos valores significativamente mayores de s VCAM-1 en asma aguda y en fase estable en comparación con los niños control. Estos hallazgos confirman que la adhesión de los leucocitos al endotelio tiene un papel en la inflamación de la vía aérea. ⁽⁹⁶⁾

5.2.9. PRUEBAS CUTÁNEAS

Las pruebas cutáneas son la primera herramienta que debe utilizarse en el diagnóstico alergológico del asma. Cuando el alérgeno es introducido por la piel en la prueba cutánea, interacciona con la Ig E unida a los mastocitos de la epidermis, induciendo una reacción maculo-papulosa con edema y eritema por liberación de mediadores, que puede medirse fácilmente. Este test nos refleja la cantidad de anticuerpos Ig E, pero el resultado también depende de la capacidad de liberar

Discusión

Según Warner et al, los factores de riesgo para el desarrollo de asma son: historia familiar de atopia, aumento de la Ig E de cordón, reducida activación y memoria de la células T, disminución de las células mononucleares productoras de IFN-gamma en sangre de cordón (TH1) y un prick test positivo a huevo o a ácaros del polvo durante el primer año de vida. ⁽⁸⁹⁾

La alergia alimentaria durante la infancia ej: a leche de vaca o a huevo, es un importante marcador de alto riesgo para presentar posteriormente alergia respiratoria ⁽⁹⁰⁾.

Los factores que determinan que niños tendrán unas sibilancias persistentes y cuales no, no son bien conocidos, pero una sensibilización temprana a alimentos o alérgenos ambientales en sujetos genéticamente predispuestos con altos niveles de Ig E en suero parece ser el principal factor. Una sensibilización temprana a alérgenos alimentarios, predispone a una sensibilización más tarde a alérgenos inhalados. ⁽⁸⁾

- En nuestro estudio se realizó esta prueba entre los 6 y 9 meses de edad, a los 22 niños que presentaban asma y 7 niños que aunque no evolucionaron a asma se objetivaba una Ig E total elevada. En todos los niños menos uno, el Prick test a neumolárgenos más frecuentes, a proteínas de leche de vaca y de huevo fueron negativos. Solo un niño presentó un prick test positivo a huevo a los 6 meses de vida. Un control más tardío en este grupo de pacientes, es probable que evidencie positividad en la sensibilización por pruebas cutáneas positivas. Tabla 37

5.2.9. Ig E específica (CAP)

Determinación de la Ig E específica: La técnica para su determinación es el RAST (radioalergosorbent test). Se utiliza principalmente como complemento al test cutáneo o como confirmación de sus resultados. En el RAST solo se determina la Ig E específica circulante.

Hay una correlación casi del 100% entre el Prick test y el RAST. Con el nuevo método del CAP-System la especificidad y sensibilidad son muy altas.

Discusión

- En nuestro estudio se realizó CAP a los neumolárgenos más frecuentes en aquellos niños que presentaron criterios de asma infantil o elevación de la Ig E total. El mismo niño que presentaba un prick positivo para el huevo se confirmó unos valores de Ig E específica altos a los 6 meses (Ig E clara huevo 10,3 KUI/L, Ig E a yema de huevo 6,2 KUI/L, valores normales < 0,35). En los otros 28 niños la Ig E específica a los neumolárgenos más frecuentes fueron negativas. La prueba se realizó en el suero de la extracción realizada a los 6 o 12 meses de vida. Es probable, como en las pruebas cutáneas que a los 4-5 años estos niños tengan una Ig E específica positiva a neumolárgenos.

5.2.10. Discusión Final

Los hallazgos más significativos en nuestro estudio han sido los siguientes, referidos al grupo que presentó asma

- 1- en la fase aguda de la bronquiolitis la respuesta inmunológica frente a la infección viral fue anómala, en el sentido de que presentaron una respuesta inmune humoral (con elevación de las inmunoglobulinas G, M, A) y un descenso de la inmunidad celular T, T4, T8. La respuesta inmune frente a la infección viral tiene que ser de predominio celular, para ser efectivas.
La Ig E total de los que presentaron asma no se elevó en el momento agudo de la bronquiolitis.
Los valores medios de IL-4 e IFN-gamma se detectaron en niveles normales esperados para la edad.
Lo que evidencia una respuesta inmunitaria anómala frente a la infección por VRS.

Discusión

- 3- Al año de edad todavía se mantiene la elevación de la inmunidad humoral y la proteína cationica eosinófila. La inmunidad celular se ha normalizado. Los valores de IL-4 se han elevado, mientras que los de IFN-gamma son muy bajos.
- 4- A los 18 meses de edad se va normalizando la inmunidad humoral, encontramos una elevación de la Ig E total. La inmunidad celular se mantiene normal. La IL-4 inicia un descenso, y el IFN-gamma sigue siendo bajo. Lo que confirma el desbalance Th1/Th2 con predominio de la respuesta Th2 y aumento ya a los 18 meses de la Ig E total en los niños que evolucionaran a asma.

Concluyendo: los patrones característicos que inducen a pensar que un niño que padece bronquiolitis va a presentar asma son:

- 1- Elevación de la respuesta humoral en el momento agudo de la bronquiolitis
- 2- Descenso de la respuesta inmunitaria celular, desde la infección VRS aguda hasta los 6 meses de vida
- 3- Elevación de los valores de IL-4 principalmente a los 6 y 12 meses de vida
- 4- Descenso del Interferón-gamma entre los 6 y 18 meses de vida

Conclusiones

Conclusiones

6. – CONCLUSIONES

- 1.- Los niños con bronquiolitis por VRS evolucionaron a asma en los 2 años posteriores a la bronquiolitis en el 44% (22 niños).
- 2.- Factores que condicionaron la evolución a asma en este grupo han sido: antecedentes de un hermano con enfermedad alérgica. Padre fumador.
- 3.- La respuesta inmunitaria a la infección aguda por VRS, fue anómala en los que evolucionaron a asma, con aumento de la respuesta humoral (LB, Ig G, Ig A, Ig M ésta última con una $p=0,014$) y descenso de la respuesta celular (LT, LT4, LT8).
- 4.- La respuesta inmunitaria humoral elevada y celular descendida se normalizó a los 12 meses.
- 5.- Los valores medios de IL-4 e IFN-gamma se detectaron en niveles normales esperados para la edad en el momento de la bronquiolitis. A los 6 meses inicia la elevación de IL-4 y el descenso de IFN-gamma en los niños que después presentaron asma. Este aumento de IL-4 y descenso de IFN-gamma se mantuvo hasta los 18 meses.
- 6.-La Ig E total de los que presentaron asma no se elevó hasta los 18 meses de vida.
- 7.- La proteína cationica eosinófila se encontró elevada a los 6 y 12 meses en los niños que después presentaron asma.
- 8.- A los 18 meses de vida los niños que han padecido bronquiolitis presentan una elevación estadísticamente significativamente ($p < 0,001$) de la molécula de adhesión sL-selectina, con respecto a los niños que no la han padecido.

Resumen

7.- RESUMEN

La bronquiolitis es una enfermedad viral muy frecuente en nuestro medio. El VRS es la causa más importante de bronquiolitis en lactantes y pequeños, afecta a más de dos tercios de lactantes en el primer año de vida y a más del 95 % a los 2 años de edad. Un 33 % de los infectados desarrollan enfermedad de vías bajas, un 1% a 2,5% precisan ingreso hospitalario y un 0,1% fallecen. ^(7,48)

Varios estudios de seguimiento han mostrado que después de una bronquiolitis por VRS es frecuente la recidiva de episodios de sibilancias, hasta un 30-80 % de los lactantes que han padecido una bronquiolitis importante tienen posteriormente sibilancias. ^(4,18,19,20)

La prevalencia de estas recidivas va disminuyendo hacia los 3.5 años de edad, aunque diez años después persisten, en algunos pacientes, una labilidad bronquial por test de histamina o post ejercicio. ^(14,21) No es fácil determinar a priori que lactantes presentarán recurrencias. ⁽¹⁵⁾

El efecto citopático del virus es el que produce la dificultad respiratoria en el brote de bronquiolitis. Durante el primer año de vida el calibre de los bronquiólos es pequeño en comparación con la superficie alveolar, el cartílago es blando y hay un número de glándulas mucosas mayor que en otras edades. Esta situación favorece la fácil oclusión de la vía aérea por fenómenos mecánicos. A ello se une la acción del virus que destruye células epiteliales, mucosas, produce inflamación y descamación del epitelio mucoso, aumento de detritus que taponan los finos bronquiólos del niño. Como resultado de la necrosis celular y descamación epitelial, queda al descubierto los receptores vagales, que al ser estimulados por el frío, o la acción mecánica de la descamación, condicionan la aparición de broncospasmo y disnea.

En la reacción inflamatoria los linfocitos T4 o helper juegan un papel regulador. Las células TH0 pueden subdividirse en dos tipos basándose en la producción de citocinas por cada subtipo: TH1 y TH2. Las TH1 están implicadas en la respuesta frente a las infecciones y en la hipersensibilidad retardada y las TH2 son responsables de la respuesta inflamatoria en la enfermedad atópica. ^(25,39) Las citocinas producidas por los TH1 son la IL-2 y el IFN- γ , en cambio las TH2 producen IL-4, IL-5. El balance entre las células TH1 y TH2 está mantenido por una inhibición mutua. El IFN- γ inhibe la actividad de las TH2 en cambio la IL-4 inhibe la actividad de las células TH1. La IL-4 induce la producción de Ig E por los linfocitos B y también juega un papel importante en la activación de los mastocitos. El IFN- γ es un potente inhibidor de la síntesis de Ig E. ^(13,41,42,43,44,45,46)

Entre las hipótesis para explicar porque algunos lactantes presentan recidivas frecuentes de inflamación bronquial y asma esta la inducción por el VRS de un desequilibrio Th1/Th2. ⁽¹⁸⁾

153

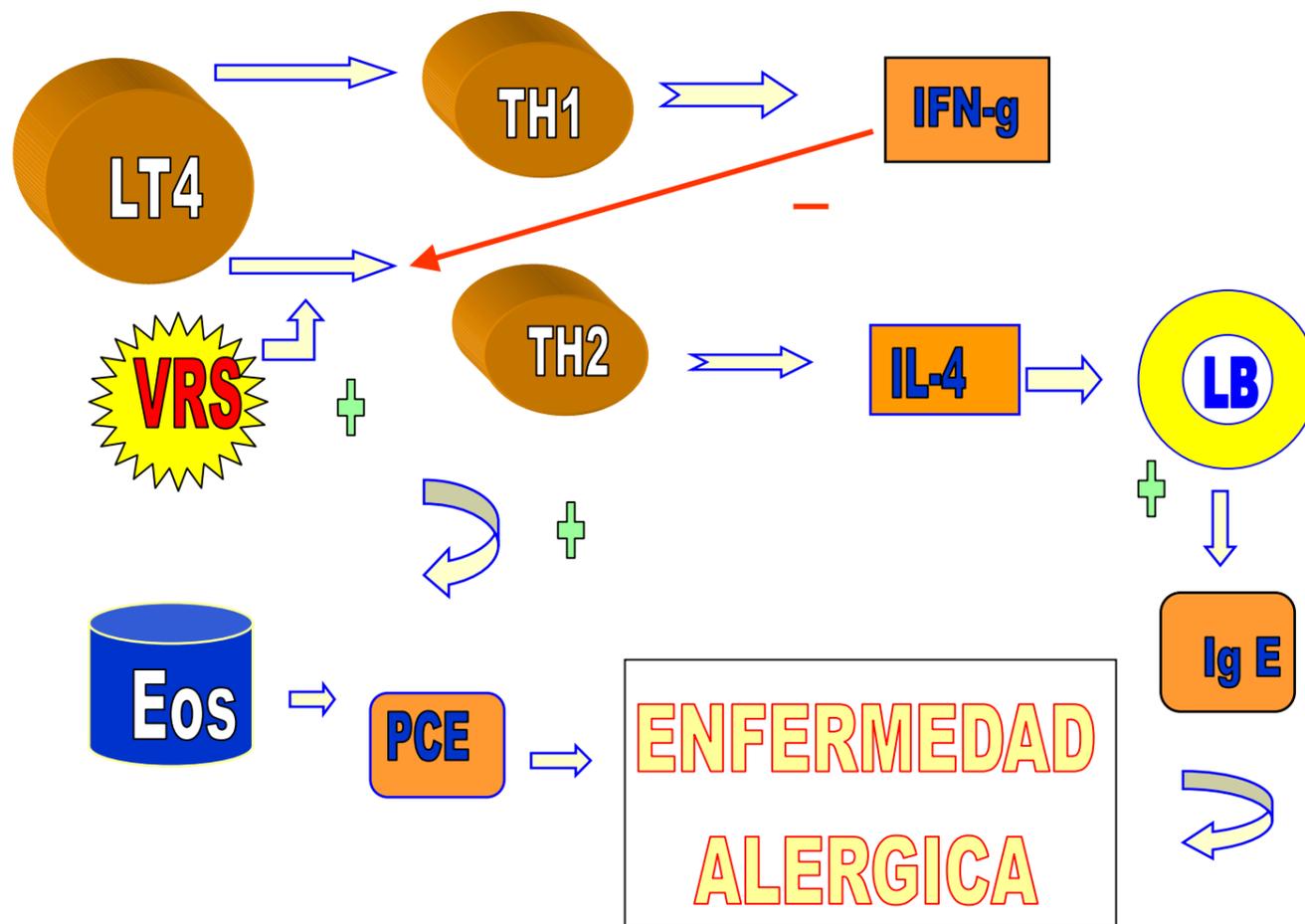
Por ello nuestra hipótesis pretende demostrar que al activar el VRS la vía de los linfocitos TH2 aumentará la producción de IL-4, Ig E total y específica en los niños que presenten asma del lactante, después de la bronquiolitis VRS+.

Así en los niños que presenten alergia a neuroalergenos, a fármacos o a alimentos esperamos encontrar unos niveles altos de IL-4 lo que traducirá un aumento de linfocitos Th2 y unos niveles disminuidos de interferón gamma. Así como una elevación (al potenciarse la producción de linfocitos Th2) de la producción de IL-5, la cual estimula a los eosinófilos la producción de la proteína catiónica eosinófila.

En resumen las hipótesis de trabajo son:

- 1- Estimulación de la proteína G del VRS sobre los linfocitos Th2 dando lugar a un aumento de la Ig E y a aparición de enfermedad alérgica (Figura 8).
- 2- Inflamación alérgica de las vías respiratorias (bronquios) que se producen en las reacciones alérgicas mediadas por Ig E, y que se pueden poner de manifiesto por el aumento de las moléculas de adhesión: VCAM-1 y L-selectina. (Figura 9)

HIPÓTESIS DE TRABAJO



156

Figura 8. Hipótesis de trabajo. Acción del VRS sobre los linfocitos

EL OBJETIVO DEL ESTUDIO:

155

Propósito: estudio prospectivo de 65 pacientes afectados de bronquiolitis por VRS para evaluar las modificaciones de la inmunidad que inducen la aparición de asma.

Los objetivos del proyecto son:

Objetivo general es establecer la relación entre la infección por el virus respiratorio sincitial y las modificaciones de la inmunidad que conducen a la aparición de asma infantil.

Para conseguir este objetivo, se plantean los siguientes *objetivos específicos*

1.- Analizar la evolución clínica y la aparición de asma infantil, de niños menores de 2 años que han padecido bronquiolitis por VRS desde los 8 días de vida hasta los 7 meses.

2.-Comprobar si los antecedentes familiares de atopia han influido como factor desencadenante de aparición de asma.

3- Detectar las alteraciones de la inmunidad en los niños con bronquiolitis por VRS, que conducen a la aparición de enfermedad alérgica (asma):

3.1 Poblaciones linfocitarias, LT; LB; LT4, LT8.

3.2- Inmunoglobulinas G, A, M

3.3- Interleucina 4 (IL-4) e Interferón gamma (INF - γ)

4.- Detectar que marcadores son útiles en los niños en que aparece asma post bronquiolitis para diagnosticar la enfermedad alérgica precoz: Ig E total, PCE, s VCAM-1. sL Selectina.

LA POBLACION DE ESTUDIO.

Esta tesis es el fruto de un seguimiento prospectivo realizado en la Sección de Inmunoalérgia del Hospital Universitario Sant Joan de Déu de Barcelona, este Hospital es centro de referencia del área del Baix Llobregat.

Pacientes: dos grupos de estudio

1- NIÑOS CON BRONQUIOLITIS. (Grupo A)

El grupo de niños problema estaba formado inicialmente por 65 niños (edad media 3 meses, 8 días a 7 meses) que ingresaron en este Hospital por su primer episodio de bronquiolitis VRS positivo, desde diciembre de 1997 hasta febrero de 1998.

Durante su ingreso se informaba a la familia de la existencia de este estudio y se les proponía la participación en el mismo. De estos, 50 niños completaron el seguimiento durante 2 años. El seguimiento se realizaba en el servicio de Inmunoalérgia, donde acudían a control clínico cada 3-4 meses y control analítico cada 6 meses, durante 2 años.

En los controles clínicos se realizaba una anamnesis y exploración física y se anotaban los procesos de bronquitis disneizante que había padecido desde la última visita. En los análisis que se realizaban en el momento de ingreso, a los 6,12 y 18 meses se solicitaba un hemograma, Inmunoglobulinas G, M, A, E, Poblaciones linfocitarias, proteína cationica eosinófila, interleucina 4, interferon gamma. A los 18 meses se solicitaron además las moléculas de adhesión: s VCAM.1, sL selectina. Figura 10

En los niños que presentaban una elevación de la Ig E total se les realizaba un Prick test a leche, huevo y neuroalergenos, además de una Ig E específica.

a. Criterios de inclusión.

Niños de varios días a 7 meses de edad diagnosticados de bronquiolitis por el virus respiratorio sincitial.

158

b. Criterios de exclusión.

- Niños afectos de inmunodeficiencia o prematuridad.
- Niños que no acudirían al seguimiento.
- Niños con enfermedades crónicas respiratorias ya diagnosticadas tanto de origen genético (fibrosis quística de páncreas) como por alteración anatómica pulmonar.
- Niños con otras enfermedades crónicas (cardiopatías, diabetes, etc.)

157



Figura 10 Esquema del grupo de estudio (niños con bronquiolitis). Grupo A

2. NIÑOS SANOS (Grupo B)

El segundo grupo, estaba formado por 80 niños, los cuales se subdividían en 4 grupos de 20 según las edades: 20 niños de 1 a 8 semanas, otros 20 que tenían entre 5 a 7 meses, otros 20 de 10 a 14 y el último de 20 niños 16 a 20 meses de edad.

Ninguno de ellos tenían antecedentes familiares o personales de atopia, ni clínica de bronquiolitis o enfermedades importantes. Estos niños tenían programada una extracción analítica por otro motivo (la mayoría eran análisis preoperatorios), solicitando permiso a la familia se determinaba en sangre la interleucina 4 y el interferón γ y las moléculas de adhesión. Este segundo grupo permitirá calcular los valores de referencia en suero de estas cuatro moléculas. Por ello solo se les realiza una determinación puntual y no se hacía un seguimiento de estos niños.

Son cuatro grupos de 20 niños, los tres primeros están formados por niños de 1-8 semanas, 5-7 meses y 10-14 meses, en ellos se determinaba en sangre la interleucina 4 y el interferon gamma, mientras que en el grupo de los niños de 16-20 meses se medían además las moléculas de adhesión (s VCAM-1, sL selectina). Figura 11

a. Criterios de inclusión.

- Todo niño que estuviera entre las edades antes mencionadas y que tuviera programada una extracción analítica.
- No tener antecedentes personales ni familiares de atopia

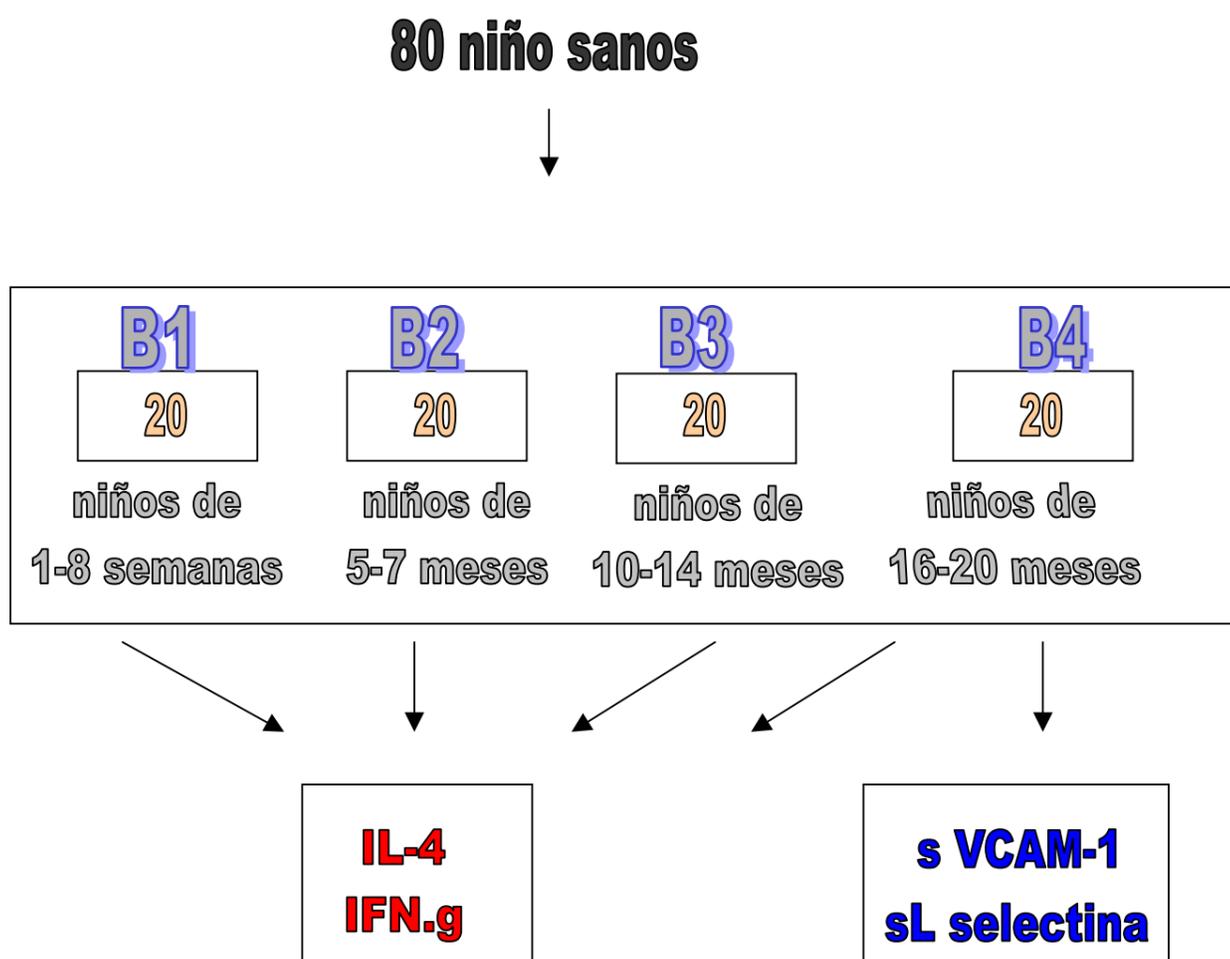
b. Criterios de exclusión.

- Tener antecedentes personales o familiares de atopia

GRUPO B

Grupo para calcular valores de referencia

No seguimiento clínico



162

Figura 11: Grupo B (niños sanos de referencia de 1 semana a 20 meses)

METODO

1. Seguimiento clínico: la ficha

161

Para la recogida de datos en estos niños se utilizó una ficha, en donde se especificaban los antecedentes familiares de alergia respiratoria (rinitis o asma) a fármacos o dermatitis atópica y los personales (sí había presentado previamente síntomas compatibles con sibilancias o asma).

Las características del ingreso por bronquiolitis, gravedad, tratamiento realizado, sobreinfección bacteriana, evolución. Además en cada visita de control se preguntaba a los padres si durante los últimos meses había presentado algún proceso de bronquitis disneizante o cualquier otra sintomatología de enfermedad atópica como eczema (diagnosticadas por un médico) gravedad de los episodios, duración y tratamientos realizados.

También se valoró el desarrollo psicomotor, el estado de inmunización (calendario vacunas), si había alguna intolerancia con los diferentes alimentos introducidos y si acudían o no a guardería. Se dejaba constancia de la exploración física en el momento de la visita y si estaba o no tomando medicación como broncodilatadores, corticoides o antihistamínicos. (Anexo.1)

Se realizaba un seguimiento clínico (anamnesis y exploración física) cada 3 ó 4 meses, anotando los datos en la ficha, hasta los 2 años de edad.

El concepto clínico del **Asma infantil**: en el presente estudio se define como la presentación de 3 o más episodios de obstrucción bronquial antes de los 2 años de edad y/o una historia de hiperreactividad bronquial, fuera de los periodos de sobreinfección respiratoria.

Para establecer el **diagnóstico de asma** en nuestro grupo de pacientes

Resumen

2. METODOLOGIA ANALITICA**2.1. Pruebas in vitro:**

1.- **Estudio etiológico de la infección viral respiratoria (bronquiolitis)** para los siguientes virus

- Virus respiratorio sincitial, mediante inmunofluorescencia directa (IFD).
- Adenovirus, influenza A y B y parainfluenza 3 mediante inmunofluorescencia directa (IFD)

VIRUS RESPIRATORIO SINCICIAL: identificación del VRS por inmunofluorescencia directa (IFD) sobre la muestra.

2-Inmunoglobulina E total:

Para la determinación cuantitativa de la Ig E total en suero humano se utilizó la inmunonefelometría con partículas intensificadoras usando los sistemas nefelométricos de Dade Behring. (Nefelómetro Behring BN II)

3- IL-4, IFN- γ :

La determinación de los niveles en suero de IL-4 e IFN- γ fueron realizados por enzimo inmunoanálisis (ELISA) de la casa Bender MedSystems.

4- Moléculas de adhesión:**SVCAM-1**

La sVCAM-1 se realiza por técnica de ELISA (Bender Med Systems) permite la detección cuantitativa de las moléculas de adhesión a nivel vascular.

SL-selectina

La sL-selectina ELISA (Bender MedSystems) permite la detección cuantitativa de la L-selectina humana soluble (moléculas de adhesión de los leucocitos).

2.2-Pruebas in vivo:**Prick test**

Se realizaron pruebas cutáneas en los niños que presentaban clínica de bronquitis de ~~Respiración~~ ¹⁶⁴ y unos valores altos de IgE.

RESULTADOS

Los hallazgos más significativos en nuestro estudio han sido los siguientes, referidos al grupo que presentó asma

163

- 1- En la fase aguda de la bronquiolitis la respuesta inmunológica frente a la infección viral fue anómala, en el sentido de que presentaron una respuesta inmune humoral (con elevación de las inmunoglobulinas G, M, A) y un descenso de la inmunidad celular T, T4, T8. La respuesta inmune frente a la infección viral tiene que ser de predominio celular, para ser efectivas.
 - a. La Ig E total de los que presentaron asma no se elevó en el momento agudo de la bronquiolitis.
 - b. Los valores medios de IL-4 e IFN gamma se detectaron en niveles normales esperados para la edad.
 - c. Lo que evidencia una respuesta inmunitaria anómala frente a la infección por VRS.
2. A los 6 meses de vida, en los niños que evolucionaron a asma, la respuesta inmunitaria humoral persiste todavía elevada. La Ig E total y los eosinófilos se mantienen igual. Se eleva la proteína cationica eosinófila, Y La inmunidad celular T, T4, T8 se mantiene descendida. Hay un aumento de los valores de IL-4 y un descenso del interferon gamma lo que supone un disbalance inmunitario Th1/Th2 con predominio de respuesta Th2, lo que inducirá a la aparición de enfermedad alérgica. Que más tarde se evidenciará como un aumento de Ig E y sensibilización frente a alergenios.
3. Al año de edad todavía se mantiene la elevación de la inmunidad humoral y la proteína cationica eosinófila. La inmunidad celular se ha normalizado. Los valores de IL. 4 se han elevado, mientras que los de IFN gamma son muy bajos.

Concluyendo: los patrones característicos que inducen a pensar que un niño que padece bronquiolitis va a presentar asma son:

- 1- Elevación de la respuesta humoral en el momento agudo de la bronquiolitis
- 2- Descenso de la respuesta inmunitaria celular, desde la infección VRS aguda hasta los 6 meses de vida
- 3- Elevación de los valores de IL-4 principalmente a los 6 y 12 meses de vida
- 4- Descenso del Interferón gamma entre los 6 y 18 meses de vida

CONCLUSIONES

1.- Los niños con bronquiolitis por VRS evolucionaron a asma en los 2 años posteriores a la bronquiolitis en el 44% (22 niños).

2.- Factores que condicionaron la evolución a asma en este grupo han sido: antecedentes de un hermano con enfermedad alérgica. Padre fumador.

3.- La respuesta inmunitaria a la infección aguda por VRS, fue anómala en los que evolucionaron a asma, con aumento de la respuesta humoral (LB, Ig G, Ig A, Ig M) y descenso de la respuesta celular (LT, LT4, LT8).

4.- La respuesta inmunitaria humoral elevada y celular descendida se normalizó a los 12 meses.

5.- Los valores medios de IL-4 e IFN gamma se detectaron en niveles normales esperados para la edad en el momento de la bronquiolitis. A los 6 meses inicia la elevación de IL-4 y el descenso de IFN-gamma en los niños que después presentaron asma. Este aumento de IL4 y descenso de IFN-gamma se mantuvo hasta los 18 meses.

6.-La Ig E total de los que presentaron asma no se elevó hasta los 18 meses de vida.¹⁶⁶
Resumen

7.- La proteína cationica eosinófila se encontró elevada a los 6 y 12 meses en los niños que después presentaron asma.

8.- A los 18 meses de vida los niños que han padecido bronquiolitis presentan una elevación estadísticamente significativamente ($p < 0,001$) de la molécula de adhesión sL –selectina, con respecto a los niños que no la han padecido.¹⁶⁵

ANEXOS

ANEXO.1 Ficha de las visitas clínicas y analíticas de cada niño.

"INFLUENCIA DE LA INFECCION POR EL VIRUS n° RESPIRATORIO SINCITIAL EN EL DESARROLLO INMUNOLÓGICO EN NIÑOS DE 0 A 2 AÑOS DE EDAD"

NOMBRE Y APELLIDOS

NHC

Fecha de nacimiento

Edad de la bronquiolitis (meses)

Vivienda ciudad
 rural

Antecedentes familiares

Familiar con	<input type="checkbox"/>	rinitis	grado parentesco	<input type="checkbox"/>	padre
	<input type="checkbox"/>	Asma		<input type="checkbox"/>	madre
	<input type="checkbox"/>	Eczema		<input type="checkbox"/>	hermano/a
	<input type="checkbox"/>	Otras		<input type="checkbox"/>	otros

Anexos

Perinatólogicos:

Parto Hospitalario si tipo eutócico
 No distócico

Complicaciones perinatológicas si
 no

Alimentación LM LA Lmixta
 Cereales s/g
 Cereales con gluten

Beikost normal
 APLV
 Alergia fruta
 Alergia huevo
 Otras

Desarrollo normal
 Anormal

Vacunaciones normal
 Anormal

Escolarización si
 No

Procesos respiratorios previos a la bronquiolitis si
 No

Alergias no
 A ácaros
 Hongos
 Plantas
 animales
 Alimentos
 Fármacos
 otras

Intervenciones quirúrgicas no
 Si

Medicación actual si 170
 No

Anexos

Broncodilatadores
 Corticoides
 Antihistamínicos ^{no}

Motivo 1er ingreso:

Virus (ELISA)	Positivo	Negativo
VRS		169
Adenovirus		
Influenza A		
Influenza B		
Parainfluenza		

Rx tórax normal
 Patológica

Escala Wood-Downes leve 1-3
 Moderada 4-7
 Grave 8-14

Medicación al ingreso O2
 Salbutamol
 Corticoides orales
 Corticoides ev
 Antibióticos
 Otros

Evolución

Buena
 Sobreinfección bacteriana
 Intubación+ventilación mecánica
 otras

Anexos

Nº

Analítica	1ª	2ª	3ª	4ª	
Fecha/edad					
Leucocitos					
Seg					
Cayados					
Linfocitos					
Monocitos					
PCR					
Ig G					
Ig A					
Ig M					
Ig E total					
Ig E espec					
Prot cat eos					
Linf B					
Linf T					
T4					
T8					
T4/T8					
Linf T abso					
IL-4					
IFN-g					
VCAM-1					
SI_selectina					

Anexos

1ª Visita Edad meses n°

Antecedentes desde el ingreso ninguno
 Catarro vías altas
 BOA de repetición
 Rinitis
 Eczema
 Otros

Exploración normal Tratamientos realizados ninguno
 Rinorrea broncodilatadores inh
 Otitis corticoides inh
 Sibilancias corticoides orales
 Disnea antihistaminicos
 Eczema Antibiot

Regimen de vida normal
 Se aconseja sacar de guardería
 otras

2ª Visita Edad meses

Antecedentes desde el ingreso ninguno
 Catarro vías altas
 BOA de repetición
 Rinitis
 Eczema
 Otros

Exploración normal Tratamientos realizados ninguno
 Rinorrea broncodilatadores inh
 Otitis corticoides inh
 Sibilancias corticoides orales
 Disnea antihistaminicos

Anexos

7ª Visita

Antecedentes desde el ingreso	Edad	meses	nº
	<input type="checkbox"/>	ninguno	
	<input type="checkbox"/>	Catarro vías altas	
	<input type="checkbox"/>	BOA de repetición	
	<input type="checkbox"/>	Rinitis	
	<input type="checkbox"/>	Eczema	
	<input type="checkbox"/>	Otros	

Exploración	<input type="checkbox"/>	normal	Tratamientos realizados	<input type="checkbox"/>	ninguno
	<input type="checkbox"/>	Rinorrea		<input type="checkbox"/>	broncodilatadores inh
	<input type="checkbox"/>	Otitis		<input type="checkbox"/>	corticoides inh
	<input type="checkbox"/>	Sibilancias		<input type="checkbox"/>	corticoides orales
	<input type="checkbox"/>	Disnea		<input type="checkbox"/>	antihistaminicos
	<input type="checkbox"/>	Eczema		<input type="checkbox"/>	Antibiot

Regimen de vida	<input type="checkbox"/>	normal
	<input type="checkbox"/>	Se aconseja sacar de guardería
	<input type="checkbox"/>	otras

8ª Visita

Antecedentes desde el ingreso	Edad	meses
	<input type="checkbox"/>	ninguno
	<input type="checkbox"/>	Catarro vías altas
	<input type="checkbox"/>	BOA de repetición
	<input type="checkbox"/>	Rinitis
	<input type="checkbox"/>	Eczema
	<input type="checkbox"/>	Otros

Exploración	<input type="checkbox"/>	normal	Tratamientos realizados	<input type="checkbox"/>	ninguno
	<input type="checkbox"/>	Rinorrea		<input type="checkbox"/>	broncodilatadores inh
	<input type="checkbox"/>	Otitis		<input type="checkbox"/>	corticoides inh
	<input type="checkbox"/>	Sibilancias		<input type="checkbox"/>	corticoides orales
	<input type="checkbox"/>	Disnea		<input type="checkbox"/>	antihistaminicos
	<input type="checkbox"/>	Eczema		<input type="checkbox"/>	Antibiot

Regimen de vida	<input type="checkbox"/>	normal	176
	<input type="checkbox"/>	Se aconseja sacar de guardería	
	<input type="checkbox"/>	Otras	

Anexos

2-Encuesta a los padres de los niños del grupo control Grupo B

- Ha padecido su hijo bronquiolitits
- Ha precisado ingreso Hospitalario alguna vez
- Ha utilizado tratamiento broncodilatador
- El padre, la madre o los hermanos tienen asma, rinitis o eczemas

175

ABREVIATURAS

9. ABREVIATURAS

PCE	proteína cationica eosinófila	177
IFN- γ	interferón gamma	
TH1	linfocitos T helper 1	
TH2	Linfocitos T helper 2	
VCAM-1	Moléculas de adhesión vascular-celular 1	
LK B	Linfocitos Killer B	
IL-2	Interleucina 2	
IL-4	interleucina 4	
IL-5	Interleucina 5	
IL-8	Interleucina 8	
ICAM-1	molécula de adhesión intercelular-1	
ICAM-2	molécula de adhesión intercelular 2	
1 (MCP-1)	proteína quimiotactica de monocitos	

BIBLIOGRAFIA**10. – BIBLIOGRAFÍA**

- 1- Mc Connochie KM. Bronchiolitis .Whats in a name. *Am J Dis child* 1983;137:11-14.
- 2- E. Koneman, S. Allen, W. Janda, P. Schreckenberger, W. Winn. *Diagnóstico Microbiológico. 5º Ed Panamericana*. cap 21: 1150-1165.
- 3- Calvo C, Garcia ML, Albañil MR. Bronquiolitis y obstrucción bronquial recurrente ¿es la eosinofilia un factor de riesgo?. *An Esp Pediatr* 2001; 55: 511-516.
- 4- Korppi M, Reijonen T, Poysa L, Juntunen- Backman K. A 2-to 3-year outcome after bronchiolitis. *AJDC*. 1993; 147: 628-631
- 5- Villa J.R. Infección desencadenante o protector del asma. *Revista de patología respiratoria*. 2001; 4: 21-23.
- 6- Kuitka L, Reijonen T, Remes K, Korppi M. Bronchial asthma after early childhood wheezing : a follow-up until 4.5-6 years of age. *Acta Paediatr* 1994; 83: 744-8
- 7- Prober CG Sullender WM. Advances in prevention of respiratory syncytial virus infections. *J. Pediatr* 1999: 135: 546-558.
- 8- Glezen WP, Denny FW. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children. *N engl J Med* 1973;288:498-505.
- 9- Howard Eigen . The RSV-Asthma Link: The emergency story. *J pediatr* 1999; 135:S1
- 10- Crespo M. Bronquiolitis del lactante. *Tratado de pediatría. 7ª ed*. Ed Espaxs 1994, 1319-24.
- 11- M. A. Martín Mateos. Infección por el virus respiratorio sincitial y asma. *Allergol et Immunopathol* 2001;29 (3): 126-151

Bibliografía

- 14- Donna S. W, Willian M. Fiedelman. Respiratory Syncytial Virus and Asthma: Is there a link?. *The Journal of pediatric Pharmacy Practice*.1999 :4 23-29.
- 15-Bonillo A, Romero J, Picazo B, Tapia L, Romero J, Martínez MI, Valor pronóstico y precisión de los indicadores de crisis asmática grave. *An Esp Pediatr* 1997; 47: 606-10.
- 16-I. Calicó, R.M. Bartolomé. M. Martín Gonzalez, R.M. Juvé Saumell, N. Tokashiki. Infecciones por el virus respiratorio sincitial. *Aspectos virológicos.Enf. Infec. Y Microbiol. Clin.* 1984; 2: 242-7.
- 17-Carbonell Estrany X,Quero Jiménez J. Et al. Recomendaciones para la prevención de la infección por virus respiratorio sincitial. *An Esp Pediatr* 2000; 52:372-374.
- 18- Hall CB, Douglas RG. Modes of transmission of respiratory syncytial virus. *J Pediatr* 1981: 99:100-104.
- 19-Aherne W, Sird T, Courts SDM, et al. Pathological changes in virus infections of the respiratory tract in children. *J Clin Pathol* 1970; 23: 7-28.
- 20- Hall CB, Hall W, Gala CL, MaGill FB, Leddy JP. Long-term prospective study in children after respiratory syncytial virus infection. *J Pediatr* 1984: 105: 358-364.
- 21- Pullan, C, Hey E. Wheezing,asthma and pulmonary dysfunction 10 years after infection with respiratory syncytial virus in infancy. *BMJ* 1982: 284:1665-1669.
- 22- Martínez FD, Wright AL, Taussing L et al. Asthma and wheezing in the first six years of life. *J Med* 1995; 132: 133-138..
- 23- Ryan, J.J. Interleukin-4 and its receptor:essential mediators of the allergic response. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 1-5.
- 24- S. Young, P.T. O'Keeffe, J. Arnott, I. I.Landau. Lung function, airway responsiveness, and respiratory symptoms before and after bronchiolitis. *Arch Dis Child* 1995; 72: 16-24.
- 25- Wald ER, Dashefsky B. Rivavirin. Red Book committee recommendations questioned. *Pediatrics* 1994; 672-673.

182

Bibliografía

- 26- Sanchez I,De Koster J, Powel Re, Wolstein R Chernick V. Efecto of racemic epinephrine and salbutamol on clinical score and pulmonary mechanics in infants with bronchiolitis. *J Pediatr* 1993;122:145-151.
- 27- G Cabrera. Bronquiolitis y sus secuelas.*An Esp Pediatr* 2000; 52: S5: 48-52
- 28- Holberg CJ, Wright AL, Martínez FD, et al. Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. *Am J. Epidemiol* 1991; 133: 1135-1151.
- 29- The Impact Study Group. Reduction of respiratory syncytial virus hospitalization among premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia using respiratory syncytial virus monoclonal antibody prophylaxis. *Pediatrics* 1998; 102: 531-537.
- 30-Committee on Infectious disease y Committee on fetus and Newborn.Prevencción de las infecciones por el virus respiratorio sincitial: indicaciones para el uso del palivizumab y actualizaciones sobre el empleo de la IGIV-VRS. *Pediatrics (ed. esp.)*1998; 46: 325-330.
- 31-Carbonell X. Prevencion de las infecciones por virus respiratorio sincitial en España.*The Pediatric Infectious disease Journal (ed. esp.)*. 1999: 3-8.
- 32- Cabrera Roca G, Dominguez Ortega F, Lafarga Capuz B, Calvo Rosales J. Estudio Clínico epidemiológico de la infección por virus respiratorio sincitial en el lactante . *An Esp Pediat* 1997;46: 576-580.
- 33--Holt PG.Environmental factors and primary T-cell sensitisation to inhalant allergens in infancy: reappraisal of the role of infeccctions and air pollution. *Pediatr Allergy Immunol* 1995: 6: 1-10
- 34- Guía para la atención del niño asmático. Comité de Asma de la Sociedad de

181

Bibliografía

- 37- Boquete M, Carballada F. Asma infantil e infecciones víricas: interacciones y posibilidades terapéuticas. *Allergol et Immunopathol* 2001; 29 (3): 133-139.
- 38-Mellado M, Rodríguez JM. Recirculación y localización tisular de células del sistema inmune: papel de las citocinas. *Medicine* 2000; 8(25): 1290-1298.
- 39- Alvaro.M. Moléculas de adhesión y asma. *Allergol et Immunopathol* 2000; 28 (3): 110-135
- 40- MC Jenmalm, B. Bjorksten, Development of the immune system in atopic children. *Pediatr Allergy Immunol* 1998;9 (suppl 11): 5-12.
- 41-Allen J.E., Maizels R.M. TH1-TH2: reliable paradigm or dangerous dogma?. *Immunology* 1997; 18 (8) 387-391.
- 42- Holt P. Infections and the development of allergy. *Toxicology letters* 1996; 86: 205-210
- 43- D. Umetsu, R. Dekruyf. TH1 and TH² CD4 cells in human allergic diseases. *J.Allerg Clin Immunol* 1997; 100:1-6
- 44- M. Sears. Epidemiology of childhood asthma. *Lancet* 1997; 350: 1015-20.
- 45- P. Joshi, A. Kalakio, D. Isaacs. The role of respiratory Syncytial Virus (RSV) in the etiology of atopy and asthma. *ACI Internacional*, 12/5 (2000).
- 45--Baert MRM, Koning H, Neijens HJ, Oranje AP, de Groot R, Savelkoul FJ. Role of the immune system in allergic children. *Pediatr Allergy Immunol* 1995; 6 (suppl 7): 27-30
- 47- Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:399-408
- 48- Hoekstra M.O., Hoekstra Y, De Reus D, Rutgers B, Gerritsen J, Kauffman H. F. Interleukin-4, interferon gamma and interleukin-5 in peripheral blood of children with moderate atopic asthma. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 1254-1260
- 49- Jenmalm M. C., Björkstén B. Development of immune system in atopic children. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9(11 Suppl) 5-12
-
- 50-Daher S, Barbosa Santos LM, Solé D, Gerbase De Lima M, Naspitz CK, Camba Musatti C. Interleukin-4 and soluble CD23 serum levels in asthmatic atopic children. *J. Allergy Clin Immunol* 1995, 5: 251-254.
- 51- Gonzalez Sanstre F. *Bioquímica clínica* 1993; 86. Ed. Barcanova. 183
- 52-Cano J, Zabaleta C, De la torre E, Yep G, Melendi JM, Sánchez M. Tabaquismo pasivo prenatal y postnatal y bronquiolitis. *An Esp Pediatr* 2003; 58: 115-120.
- 53- I.M. Balfour- Lynn. Why do viruses make infants wheeze?. *Arch D. Child* 1996; 74: 251-259.
- 54- Alba F, Alsina J. Estudio clínico-epidemiológico de las enfermedades del tracto respiratorio inferior con sibilancias en menores de 2 años y factores de riesgo asociados. *An Esp Pediatr* 1999; 50: 379-383.
- 55- Paricio J. M, Ferriol M, Fernández A, Santos L, Beseler B, Sánchez M. Bronquiolitis, datos epidemiológicos y revisión crítica del tratamiento utilizado. *Rev Esp Pediatr* 1999; 55: 497-503
- 56-Calvo C, Garcia M.L, Albañil M. R. Bronquiolitis y obstrucción bronquial recurrente: ¿es la eosinofilia un factor de riesgo?. *An Esp Pediatr* 2001; 55: 511-516
- 57-Colinas J, Rodríguez del Corral C, Gómez P, Fierro A, Muro JM. Jiménez E. Bronquiolitis. Revisión de 153 casos y estudio comparativo del tratamiento con ribavirina. *An Esp Pediatr* 1997; 46: 143-147.
- 58-D. P. Strachan, L. Harkins, I. Johnston and R. Anderson. Childhood antecedents of allergic sensitization in young British adults. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:6-12.
- 59- Sears M. Epidemiology of childhood asthma. *Lancet* 1997; 350: 1015-20

Bibliografia

- 62- N.-I.M Kjellman. Atopic disease in seven years old children. *Acta Paediatr Scan* 66: 465-471, 1977.
- 63- Strannegard O, Cello J, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Sigurs N. Association between pronounced Ig A response in RSV bronchiolitis and development of allergic sensitization. *Pediatr Allergy Immunol* 1997; 8: 1-6.
- 64- Carbonell X, Cohen A, Fauroux B, Kimpen J, Masmontiel T, Law B, Piedimonte G, Resch B, Singur N. Recent Developments in RSV disease. *J. Respir disease*. November 2000 sup 5-8.
- 65- Gergen PJ, Fowler JA, Maurer KR, Davist W, Overpeck M. The Burden of environmental tobacco smoke exposures on the respiratory health of children 2 months through 5 years of age in the United States: Third National Health and Nutrition Examination Survey 1988 to 1994. *Pediatrics* Vol 101 No.2 February 1998, p. e8.
- 66-Adler A, Ngo L, Tosta P, Tager IB. Association of tobacco smoke exposure and respiratory syncytial virus infection with airways reactivity in early childhood. *Pediatr Pulmonol* 2001 Dec; 32 (6): 418-27.
- 67- Duff a. Pomeranz E, Gelber L, Price W, Faris H, Hayden F, Platts-Mills T, Heymann P. Risk factors for acute Wheezing in infants and children: viruses, passive smoke, IgE antibodies to inhalant allergens. *Pediatrics*; 92(4): 535-540.
- 68- Pardo M. R, Pérez R, Llorca J, Rodrigo E, Álvarez L, Delgado M. Influencia del hábito tabáquico familiar en la hospitalización infantil por enfermedades respiratorias en los dos primeros años de vida. *An Esp Pediatr* 2000; 53:339-345.
- 69- Gurkan F, Kiral A, Dagli E, Karakoc F. The effect of passive smoking on the development of respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Eur J Epidemiol* 2000 May; 16 (5): 465-8.
- 70- Lukic-Grlic A., Bace A., Lokar-Kolbas R., Loffer-Badzek D., Drazenovic V., Bozиков J., Mlinaric-Galinovic G. Clinical and epidemiological aspects of respiratory syncytial virus lower respiratory tract infections. *Eur J Epidemiol* 1999; 15: 361-365.
- 71- Dobson J, Stephens-Groff S, Mc Mahon S, Stemmler M, Brallier S, Bay C. The use of albuterol in hospitalized infants with bronchiolitis. *Pediatrics* 1998;101:361-8.
-
- 72- Mejías A, Ramilo O. Asma y virus respiratorio sincitial: ¿mito o realidad? *An Esp Pediatr* 2002; 57: 199-204.
-
- 73-F.D. Martínez. Viral infections and the development of asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 151: 1644- 1648.
- 74- T. Reijonen, M. Korppi, L. Kuikka, K. Savolainen, M. Kleemola, I. Mononen, and K. Remes. Serum eosinophil cationic protein as a predictor of wheezing after bronchiolitis. *Pediatric Pulmonology* 1997;23; 397-403.
- 75- Blanco A. Asma y virus respiratorio sincitial. *An Esp Pediatr* 2003; 58: 86-87
- 76- Mejias A, Ramillo O. Replica de los autores. *An Esp Pediatr* 2003; 58: 87-88.
- 77- K. Oymar, R. Bjerknes. Is serum eosinophil cationic protein in bronchiolitis a predictor of asthma?. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9: 204-207.
- 78-GL. Toms, R Quinn, JW Robinson. Undetectable Ig E responses after respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child* 1996; 74: 126-130.
- 79- Oymar K, Elsayed S, Bjerknes R. Serum eosinophil cationic protein and interleukin-5 in children with bronchial asthma and acute bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol* 1996;7: 180-186
- 80-Elisasser-Beile U, Dursunoglu B, Gallati H, Schulte J, Von Kleist S. Comparison of cytokine production in blood cell cultures of healthy children and adults. *Pediatr Allergy Immunol* 1995; 6;170-174.
- 81- Borres MP, Einarsson R, Bjorksten B. Serum levels interleukin-4, soluble CD23 and IFN gamma in relation to the development of allergic disease during the first 18 months of life. *Clin Exp Allergy* 1995; 25:543-548.
- 82- Ohshima Y, Kotomura J, Miura M, Mikawa H, Moriyama M. Serum levels of

Bibliografia

- 84- D. Koller, C. Wojnarowski, K. Herkner, G. Weinlander, M. Raderer, I Eichler, T. Frischer. High levels of eosinophil cationic protein in wheezing infants predict the development of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:752-6.
- 85- Chung HL, Kim SG. RANTES may be predictive of later recurrent wheezing after respiratory syncytial virus bronchiolitis in infants. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002; 88: 463-7.
- 86-Renzi P., Turgeon J., Marcotte J., Drblik S., Berubé D., Gagnon M., Spier S. Reduced interferon- γ production in infants with bronchiolitis and asthma. *Am J Crit Care Med* 1999; 159: 1417-1422.
- 87- Oymar K, Bjerknes R, Differential patterns of circulating adhesion molecules in children with bronchial asthma and acute bronchiolitis. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9:73-79.
- 88-Fiscus L, VAN Herpen J, Steeber D, Tedder T, Tang M. L-Selectin is required for the development of airway hyperresponsiveness but not airway inflammation in a murine model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 1019-24.
- 89-Warner JO, Warner JA, Clough JB, Rao R, Marguet C, Pohunek P, Roche WR. Markers of allergy & inflammation. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9(11 Suppl) 53-7.
- 90-Kjellman NIM. Nilsson L. From food allergy and atopic dermatitis to respiratory allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 1998; 9 (suppl 11): 13-17.
- 91- Kotecha S, Silverman M, Shaw RJ, Klein N. Soluble L-selectin concentration in bronchoalveolar lavage fluid obtained from infants who develop chronic lung disease of prematurity. *Arch Dis Fetal Neonatal* 1998; 78: 143-7.
- 92- Oomen A, Patel R, Browning M, Grigg J. Systemic neutrophil activation in acute preschool viral wheeze. *Arch Dis Child*. 2003; 88: 529-31
- 93-Gianaki G, Rizos D, Xyni K, Sarandakou A, Protonotarios E, Phoca- Creatsas G. Serum soluble E- and L-selectin in the very early neonatal period. *Early Hum Dev*. 2000; 60: 149-55.
- 94- Ballabh P, Kumari J, Krauss AN, Shin JJ, Jain A, Auld PA; Lesser M, Cunningham R, Rundles S. Soluble E-selectin, soluble L-selectin and soluble ICAM -1 in bronchopulmonary dysplasia, and changes with dexamethasone. *Pediatrics* 2003;111: 461-8
- 95- Hamzaoui A, Ammar J, El Mekki F, Borgi O, Ghrairi H, Ben Brahin, Hamzaoui K. Elevation of serum soluble E- selectin and VCAM-1 in severe asthma. *Mediators Inflamm* 2001;10:339-42.
- 96- Tang RB, Chen SJ, Soong WJ, Chung RL. Circulating adhesion molecules in sera of asthmatic children. *Pediatr Pulmonol* 2002;33:249-54

