

Mesa Redonda: Problemática alérgica en Pediatría

Sibilancias en el lactante

J. PELLEGRINI BELINCHÓN¹, S. DE ARRIBA MÉNDEZ²

¹Centro de Salud de Pizarrales. Salamanca. ²Servicio de Pediatría. Unidad de Neumología. Hospital Clínico Universitario de Salamanca

Tratar las sibilancias en el lactante en una mesa de alergia en la infancia, hace necesario realizar una serie de consideraciones con respecto a las sibilancias en los primeros meses de vida. La historia natural de las sibilancias en esta edad es importante por varias razones, por una parte porque la exposición a determinados antígenos, tanto alimentarios como neumoaérgenos⁽¹⁾ o incluso infecciones víricas pueden condicionar el desarrollo posterior de alergia y/o asma, por otra parte la mayoría de los niños asmáticos han presentado episodios de sibilancias antes de los 3 años de edad.

La sibilancia, es un signo inespecífico ocasionado por la limitación al flujo aéreo a través de vías aéreas estrechas y que se genera por la presencia de un flujo turbulento que causa oscilación de la pared bronquial. La estrechez de las vías aéreas en los primeros meses de vida y las respuestas habituales del pulmón ante agresiones externas con inflamación de la pared bronquial, broncoconstricción y producción de moco, hacen que las sibilancias en estas edades sean más frecuentes que en etapas posteriores de la infancia⁽²⁾.

Por lo tanto, las sibilancias recurrentes (SR) en los primeros meses de vida las podemos considerar como causadas por un conjunto muy variado de alteraciones, probablemente con distintos mecanismos fisiopatológicos, pero con una expresión clínica común en forma de obstrucción recurrente de la vía aérea.

Aunque la mayoría de los lactantes con SR tienen un problema transitorio que se soluciona espontáneamente durante los primeros años de vida, una parte de ellos desarrollará asma que se podrá prolongar durante toda la vida⁽³⁾.

ETIOLOGÍA DEL ASMA, GENÉTICA Y EPIGENÉTICA

A pesar de que se ha avanzado mucho en el conocimiento sobre la etiología del asma, todavía queda un largo camino por recorrer. La influencia familiar es un hecho reconocido desde hace años y sabemos que es más frecuente el desarrollo del asma en un niño si sus padres son asmáticos, así como la mayor concordancia en gemelos idénticos⁽⁴⁾. La epidemiología del asma indica que el patrón hereditario no sigue el modelo mendeliano clásico, se trata de una enfermedad poligénica que no depende de un único gen sino de varios, a diferencia de otras enfermedades en las que se ha observado que la alteración en un único gen es capaz de producirlas.

Los estudios en gemelos han puesto de manifiesto que la "capacidad de heredar el asma" es aproximadamente del 60%^(4,5), lo que indica que el 40% restante dependerá de otros factores.

Se trata por lo tanto de una enfermedad de origen multifactorial, en la que la susceptibilidad de la persona para presentar asma no solamente está determinada por la presencia de ciertos genes en una combinación propia, sino que además se precisa de la participación de factores ambientales, siendo importante el momento de la vida en que estos interactúen⁽⁶⁾.

Para poder realizar estudios genéticos es preciso tener bien definido el grupo de personas que presentan la enfermedad. Esto, en el caso del asma es muy complicado, ya que la selección de candidatos a estudiar se basa en criterios clínicos, de hiperreactividad bronquial, inflamación pulmonar, de respuesta al tratamiento o criterios espirométricos, lo que da una variabilidad importante y aumenta la complejidad⁽⁷⁾.

© 2014 Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León
 Éste es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Reconocimiento-No Comercial de Creative Commons (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/es/>), la cual permite su uso, distribución y reproducción por cualquier medio para fines no comerciales, siempre que se cite el trabajo original.

Por lo tanto, en casos como el asma infantil y más las sibilancias recurrentes en los primeros meses de vida que no tienen una base bioquímica y fisiológica perfectamente definida, es necesario al menos por ahora, asociar los estudios genéticos a estudios epidemiológicos.

En el momento actual sabemos que algunos genes tienen variantes asociadas estadísticamente con el asma y podrían participar en su patogenia y que existen determinadas regiones cromosómicas en las que se sospecha que pueden encontrarse genes asociados con la capacidad para desarrollar asma.

Existen varios sistemas para identificar los posibles genes causantes del asma. Seleccionando “**regiones candidatas**” que son aquellas que codifican proteínas relacionadas con la enfermedad o bien mediante la “**búsqueda amplia del genoma**” es decir buscando pequeñas variaciones en la secuencia genética contenidas en regiones codificantes^(5,7,8).

También se estudian los polimorfismos^(7,9,10) de un determinado gen, es decir, sus variaciones en la secuencia de DNA, cuando se producen en más del 1% de la población. Si el polimorfismo se encuentra en la zona codificadora del gen, se podrá alterar la función fisiopatológica de este al alterarse la proteína codificada, en caso de que se sitúe en la región reguladora del gen, no se afectará a la codificación pero puede verse afectada la expresión de dicho gen, por último si el polimorfismo se produce en una parte no codificadora ni reguladora, se desconoce su posible impacto.

La epigenética hace referencia, en un sentido amplio, al estudio de todos aquellos factores no genéticos que intervienen en la determinación y desarrollo de un organismo.

Consisten en modificaciones químicas que incluyen la metilación del DNA, la acetilación, metilación o fosforilación de las histonas y otros procesos. Estos cambios hacen que un determinado gen pueda expresarse o no⁽¹¹⁾.

Por lo tanto podemos decir que la epigenética produce modificaciones en la expresión de genes, sin cambios en la secuencia del DNA, y estas modificaciones son heredables. Una de las fuentes de mayores modificaciones de los genes la constituye los factores ambientales, que pueden afectar a uno o varios genes con múltiples funciones. Por medio de la regulación epigenética se puede observar como es la adaptación al medio ambiente, dada la plasticidad del genoma, el cual tiene como resultado la formación de distintos fenotipos, dependientes del medio ambiente al que sea expuesto el organismo.

Las modificaciones que se dan presentan un alto grado de estabilidad y aunque son potencialmente reversibles, al ser heredables permite que se puedan mantener en un linaje celular por varias generaciones.

La epigenética podría explicar no sólo las discordancias observadas entre gemelos monocigotos sino también fenómenos como expresión distinta de la herencia de un rasgo por vía paterna o materna, el por que unas personas desarrollan la enfermedad en un momento de la vida y otras en otro, la influencia de la dieta, el humo del tabaco, oxidantes, infecciones, alérgenos, enfermedades maternas, etc.^(7,12).

En el momento actual se piensa que en la relación genética-epigenética, expresada en términos de exposición ambiental, es muy importante el momento del desarrollo del sistema inmunitario en el que se produce la interacción, así la vida uterina es posiblemente el momento más crítico en la programación del desarrollo, cuando las exposiciones ambientales pueden tener el mayor potencial de influir en la evolución de la función y la estructura fetal.

En los últimos años ha habido progresos importantes en la comprensión de los mecanismos epigenéticos a través de los que se puede alterar la expresión de genes fetales y contribuir al aumento de la prevalencia de determinadas enfermedades como el asma en la infancia. La exposición microbiana, cambios dietéticos, humo de tabaco y contaminantes, pueden inducir cambios epigenéticos en la expresión de genes y alterar el riesgo de padecer asma en los primeros años de la vida⁽¹³⁾.

Así, las complejas interacciones pre y postnatales entre la predisposición genética y los factores ambientales pueden generar distintas respuestas de desarrollo broncopulmonar e inmunológico que condicionen la aparición de diferentes fenotipos de sibilancias, en niños que en el futuro serán asmáticos o no⁽¹⁴⁾.

FISIOPATOLOGÍA. DIFERENCIAS ENTRE EL LACTANTE Y NIÑOS MAYORES

En el momento actual se piensa que el asma del adolescente y del adulto puede estar ya determinado⁽¹⁵⁾ desde la primera infancia, marcado por factores antenatales y postnatales en una ventana de oportunidad que abarca los 3 primeros años en los que existiría la posibilidad de intervenir para minimizar el deterioro pulmonar, pues se ha descrito que una vez establecida la función pulmonar a los 6 años, persistirá en el futuro⁽¹⁶⁾, independientemente de las intervenciones que se realicen. Por lo tanto es importante recordar, aunque de forma necesariamente simplificada, la fisiopatología.

Los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan la resistencia al flujo aéreo, y por lo tanto la producción de sibilancias, son inflamación, obstrucción, hiperrespuesta bronquial y en caso de cronificarse se puede producir remodelado de la vía aérea.

La inflamación se produce como respuesta de un tejido vascularizado ante una agresión. En la inflamación asmática participan especialmente linfocitos, mastocitos y eosinófilos. Pero en algunos casos, sobre todo en niños pequeños, los neutrófilos parecen desempeñar un papel importante⁽¹⁷⁾.

En la inflamación están implicados mecanismos inmunológicos, que pueden estar mediados o no por IgE, y otros no inmunológicos. Al menos en niños mayores, con frecuencia el asma es alérgica, y está mediada por mecanismos inmunológicos IgE dependientes. En este caso, los linfocitos Th2 son inicialmente activados por el alérgeno, que ha sido presentado por células presentadoras de antígenos. La activación de los linfocitos Th2 induce la formación de interleucinas (como las IL 4,5 y 13) de moléculas de adhesión y la síntesis de IgE específica por parte de los linfocitos B.

La IgE se une entonces a los receptores de mastocitos, basófilos y eosinófilos, y producen la sensibilización del sujeto. De esta forma, una nueva exposición al alérgeno interactúa con la IgE específica presente en la membrana de las células diana provocando la liberación de los mediadores de la inflamación⁽¹⁸⁾.

Existe además un mecanismo no inmunológico que mantiene y aumenta la respuesta inflamatoria mediante la formación de citoquinas por parte de células epiteliales, endoteliales y fibroblastos de la vía respiratoria y de la liberación de neuropéptidos cuando las fibras nerviosas son estimuladas por irritantes inespecíficos⁽¹⁸⁾.

La inflamación es, por tanto, el resultado de la interacción compleja de diferentes células, donde los eosinófilos tienen un papel importante en el asma atópica y donde los neutrófilos, se ha visto en los últimos años, que pueden liberar gran cantidad de enzimas preformadas y compuestos citotóxicos y que parecen tener mucha importancia en los procesos de sibilancias y/o asma exacerbados por infecciones virales en los niños pequeños⁽¹⁷⁾.

La hiperreactividad bronquial se define como la respuesta exagerada de las vías aéreas ante una gran variedad de estímulos "provocadores" que causan estrechamiento de la vía. Aunque los mecanismos responsables de esta hipersensibilidad no son bien conocidos si parecen estar relacionados con un entorno alterado del músculo liso bronquial, su contractibilidad y con cambios inflamatorios de la pared bronquial.

La obstrucción se define como una limitación al flujo aéreo, producida por diversos mecanismos: contracción del músculo liso, edema de la mucosa bronquial, ocupación de la luz bronquial por secreciones mucosas y restos de descamación de la mucosa dañada por la acción de las células que intervienen en la inflamación y sus mediadores.

Por último, el remodelado de la vía aérea se define en su forma más amplia, como la alteración en tamaño, masa o número de los componentes estructurales de un tejido que aparecen durante el crecimiento o bien provocados como respuesta a una agresión. Así el remodelado es beneficioso en el crecimiento pulmonar pero supone un problema cuando hay cambios estructurales provocados por la cicatrización crónica causada por los intentos sucesivos de reparación tras el daño recurrente en la vía aérea. Durante mucho tiempo se pensó que el remodelado es consecuencia siempre de la inflamación, pero en los últimos años se ha sugerido que pueda ser un episodio independiente de la inflamación y que puede contribuir por si mismo al desarrollo y persistencia de la inflamación de la vía aérea⁽¹⁷⁾.

Resumiendo en el caso de las sibilancias en los niños pequeños en los primeros meses de vida, sobre todo en el caso de lactantes atópicos, las sibilancias no se deberían a la relación causa-dosis-efecto entre exposición a neuroalérgenos y síntomas, sino a la combinación de factores genéticos y ambientales que son capaces de alterar las vías aéreas y la respuesta inmunológica, además los virus, en estas edades, serán capaces de desencadenar sibilancias tanto en niños atópicos como no atópicos, pero en otros niños nunca las llegan a producir.

Por lo tanto existe una predisposición genética al asma, así hay personas atópicas que tras exposiciones mínimas desarrollan asma y otras que con exposiciones máximas nunca desarrollan síntomas y la edad puede ser determinante.

La epigenética aclara como factores ambientales como la alimentación, la exposición al humo del tabaco, lactancia materna, polución ambiental o infecciones pueden influir en el desarrollo del asma.

De esta forma las interacciones ante y postnatales entre distintos factores ambientales y la predisposición genética de cada individuo generan distintas respuestas de desarrollo pulmonar e inmunológico que pueden ser capaces de determinar la aparición de diferentes fenotipos de sibilancias en niños que en el futuro serán asmáticos o que no lo serán, y que veremos más adelante⁽¹⁹⁾.

Aunque no los vamos a desarrollar en esta sesión, se han descrito distintos fenotipos para valorar que lactantes con sibilancias serán o no futuros asmáticos⁽²⁰⁻²²⁾.

ESTUDIO INTERNACIONAL DE SIBILANCIAS EN LACTANTES

El asma es la enfermedad crónica más frecuente en la infancia y en una u otra medida afecta aproximadamente a un

10% de la población infantil de los países desarrollados⁽²³⁻²⁵⁾. El *International Study of Asthma and Allergies in Childhood* (ISAAC) ha permitido conocer que la prevalencia del asma en España en niños mayores es relativamente baja: aproximadamente un 9% de los niños de 13-14 años reconocen haber tenido síntomas durante el año anterior, y el 10% de padres de niños de 6-7 años informan que sus hijos han padecido sibilancias en el mismo período. Esta prevalencia ha permanecido constante en los niños mayores entre 1994 y 2002, mientras que ha aumentado ostensiblemente (de 7% a 10%) en los niños de 6-7 años⁽²⁵⁻²⁷⁾.

A pesar de que las sibilancias son uno de los problemas más prevalentes en los primeros años de vida, no ha habido hasta ahora, a nivel internacional estudios amplios, exhaustivos, que utilizando la misma metodología, permitan comparar la epidemiología de sibilancias en niños de corta edad en distintos países con diferente nivel de desarrollo.

Para poder desarrollar un amplio estudio internacional sobre las sibilancias en los primeros años de vida, fue propuesto por algunos de los coordinadores del ISAAC realizar un estudio del mismo tipo y siguiendo una metodología parecida, que permitiera comparaciones entre países y dentro de cada país; pero que se centrara en las sibilancias durante el primer año de vida.

El Estudio Internacional de Sibilancias en Lactantes (EISL) se diseñó con el fin de estudiar otros factores distintos a los virus que puedan influir en la génesis de sibilancias durante el primer año de vida del niño⁽²⁸⁾. Se trata de un estudio multicéntrico internacional de tipo trasversal basado en la población general, de la que se ha extraído la muestra de niños de un año de vida.

Han participado diversos países de Latinoamérica (Brasil, Chile, Colombia, Venezuela y México) y de Europa (España y Holanda). En cada país se han formado uno o varios grupos, así en España iniciaron el estudio Murcia, Bilbao, La Coruña y Valencia y posteriormente Salamanca y Cantabria han comenzado a comunicar sus primeros resultados.

El estudio se ha realizado mediante la aplicación del cuestionario del EISL que consta de 77 preguntas con 118 ítems con preguntas sobre características demográficas, distintas cuestiones acerca del hogar y del entorno del niño y su familia, hábitos alimenticios de la madre durante la gestación, enfermedades y toma de medicaciones, complicaciones durante el parto, antecedentes atópicos familiares y sobre eccema en el niño, asistencia a guardería, tabaquismo familiar, procesos de sibilancias, características y gravedad de los mismos, así como tratamientos efectuados.

Se definen como "sibilancias recurrentes", el haber presentado 3 o más episodios de sibilancias durante el primer año de vida.

La variable principal del estudio fue la presencia o ausencia de sibilancias recurrentes durante el primer año de la vida, utilizándose como variable dependiente en el estudio de asociación.

Se realizó la validación del cuestionario⁽²⁹⁾ y sus resultados de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo son equivalentes a los encontrados por otros cuestionarios frente a pruebas objetivas⁽³⁰⁾. La metodología utilizada en el EISL se basa en la empleada en el ISAAC en sus fases I y III en niños mayores⁽³¹⁾.

Se consideró que el niño había presentado "sibilancias" cuando la respuesta a la pregunta: "¿Ha tenido su hijo/a silbidos o pitos en el pecho en sus primeros 12 meses de vida?" fue positiva.

EISL SALAMANCA

En el EISL Salamanca se ha extraído la muestra entre los niños de un año de vida, nacidos en la provincia de Salamanca entre el 1 de junio de 2008 y el 31 de mayo de 2010.

El cuestionario se entregó a los padres de los niños que acudieron a todos los Centros de Salud de los centros estudiados a los 12 meses, o bien a los 15 meses de edad, pero si la encuesta se realizó a los 15 meses se advertía que todas las preguntas eran referidas al primer año de vida del niño.

Se excluyeron del estudio aquellos niños cuyos padres no cumplimentaron la encuesta, lo hicieron de manera incompleta o incorrecta, desconocían el número de episodios de sibilancias que habían tenidos sus hijos en el primer año de vida o no firmaron el consentimiento informado.

Con respecto al análisis estadístico, para el estudio descriptivo de las variables cualitativas se han obtenido frecuencias y porcentajes. Para las variables cuantitativas, media y error estándar.

La significación estadística para la asociación de variables cualitativas se ha contrastado con el test Chi-cuadrado y Odds Ratio (OR) con intervalo de confianza del 95% (95% CI).

Para evaluar la relación entre variables cualitativas y cuantitativas se ha utilizado el test T de student y/o ANOVA según procede; se declaró significación para un p-valor menor de 0,05.

Para los cálculos se ha utilizado el programa estadístico SPSS v.18. Se ha calculado el OR con sus correspondientes intervalos de confianza del 95. Una vez detectadas las variables relacionadas de forma significativa con la presencia de SR, (p-valor <0,05), utilizando modelos de regresión logística, se ha construido un modelo multivariante de regresión

logística múltiple, considerando todas esas variables, el cual nos ha permitido estimar la probabilidad de aparición de SR y cuantificar la aportación de cada variable en presencia de las demás.

En el EISL Salamanca se han detectado como factores de riesgo para presentar SR durante el primer año de vida, el tabaquismo materno durante el segundo y tercer trimestre, Odds Ratio (OR) e Intervalo de Confianza (IC) al 95%: OR: 1,63; IC95% 1,07-2,50 y 1,82; 1,20-2,77 respectivamente, y después del parto 1,47; 1,04-2,10, antecedentes de asma en la madre 1,91; 1,16-3,13, la ingesta por la madre de comida rápida ≥ 3 veces semana 3,96; 2,18-7,19, la asistencia a guardería 2,09; 1,53-2,86, el haber tomado lactancia materna exclusiva (LME) ≤ 3 meses 1,53; 2,12-2,10, el haber presentado eczema 2,69; 1,93-3,74 y el contacto con determinadas mascotas como conejo/hamster y aves tanto al nacer el niño 3,46; 1,89-6,30 y 2,09; 1,26-3,46 respectivamente, así como la presencia de las mismas mascotas posteriormente 2,51; 1,25-5,03 y 1,86; 1,16-2,96 respectivamente. Se ha mostrado como factor protector la dieta mediterránea durante el embarazo 0,91; 0,87-0,95.

Por el contrario no se han detectado relación estadísticamente significativa con otros variables estudiadas como la ingesta de paracetamol por la madre durante la gestación 1,33; 0,83-2,14⁽¹⁴⁾.

A partir del estudio multivariante de las variables con significación estadística para SR, se ha desarrollado un modelo matemático predictivo para valorar, a partir de determinados factores de riesgo o considerados protectores, la probabilidad de que un niño presente sibilancias recurrentes durante el primer año de vida y se establecen las distintas probabilidades según se cambien uno o varios de estos factores.

BIBLIOGRAFÍA

- Polk S, Sunyer J, Muñoz-Ortiz L, Barnes M, Torrent M, Figueroa C, et al. A prospective study of Fel d1 and Der p1 exposure in infancy and childhood wheezing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004; 170(3): 273-8.
- García-Marcos L, Sanchez-Solís M, Bosch V. Epidemiología e historia natural de las sibilancias en el lactante. In: JR VA, ed. *Sibilancias en el lactante 2009.* Madrid: Luzán; 2009. p. 11-26.
- Castro-Rodríguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martínez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162: 1403-6.
- Duffy DL, Martin NG, Battistutta D, Hopper JL, Mathews JD. Genetics of asthma and hay fever in Australian twins. *Am Rev Respir Dis.* 1990; 142(6): 1351-8.
- García-Marcos L. Genes, medio ambiente y asma. *An Pediatr Monog.* 2004; 2(1): 9-29.
- Sirvent Gómez J, Korta Murua J, Sardón Prado O, González Perez-Yarza E. Etiopatogenia, fisiología y diagnóstico del asma. En: Cobos EGPY, ed. *Tratado de neumología infantil.* 2ª ed. Madrid: Ergon; 2009. p. 655-80.
- De Arriba Mendez S, Ortega Casanueva C, Pellegrini Belinchón J. Genética del asma. *Bol Pediatr.* 2010; 50: 188-92.
- Blumenthal MN, Langefeld CD, Beaty TH, Bleecker ER, Ober C, Lester L, et al. A genome-wide search for allergic response (atopy) genes in three ethnic groups: Collaborative Study on the Genetics of Asthma. *Hum Genet.* 2004; 112(2): 157-64.
- Arriba-Méndez S, Sanz C, Isidoro-García M, Davild I, Laffond E, Horeno E, et al. 927T>C polymorphism of the cysteinyl-leukotriene type-1 receptor (CYSLTR1) gene in children with asthma and atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006; 17(5): 323-8.
- Arriba-Méndez S, Sanz C, Isidoro-García M, Pascual M, Ávila C, Dávila I, et al. Analysis of 927T > C CYSLTR1 and -444A > C LTC4S polymorphisms in children with asthma. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2008; 36(5): 259-63.
- Isidoro-García M, Dávila-González I, Pascual de Pedro M, Sanz-Lozano C, Lorente-Toledano F. Interactions between genes and the environment. Epigenetics in allergy. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2007; 35(6): 254-8.
- Ho SM. Environmental epigenetics of asthma: an update. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126(3): 453-65.
- Martino D, Prescott S. Epigenetics and prenatal influences on asthma and allergic airways disease. *Chest.* 2011; 139(3): 640-7.
- Pellegrini Belinchón J. Epidemiología de las sibilancias en el primer año de vida. Estudio multicéntrico. Tesis doctoral. Salamanca (España). Universidad de Salamanca; 2012.
- Martínez FD. Toward asthma prevention-does all that really matters happen before we learn to read? *N Engl J Med.* 2003; 349(15): 1473-5.
- Morgan WJ, Stern DA, Sherrill DL, Guerra S, Holberg CJ, Guilbert TW, et al. Outcome of asthma and wheezing in the first 6 years of life: follow-up through adolescence. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172(10): 1253-8.
- Villa Asensi JR. La inflamación y el musculo: antigua y nueva relación. *An Pediatr.* 2004; 2(1): 30-6.
- Ruiz San Francisco A, Lorente Toledano F. Asma bronquial. En: Del Pozo Machuca J, RedondoRomero A, Gancedo García MC, Bolivar Galiano V, eds. *Tratado de Pediatría Extrahospitalaria.* 2ª ed. Madrid: Ergon; 2011. p. 415-24.
- Reverté Bover C, Moreno Galdó A, Cobos Barroso N. Aspectos inmunológicos en el asma del niño pequeño. En: JR VA, ed. *Sibilancias en el lactante.* Madrid: Luzán; 2009. p. 27-42.
- Martínez FD, Wrigth A, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med.* 1995; 332(3): 133-8.
- Halonen M, Stern DA, Lohman C, Wright AL, Brown MA, Martínez FD. Two subphenotypes of childhood asthma that differ in

- maternal and paternal influences on asthma risk. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 160(2): 564-70.
22. Taussig LM, Wrigth A, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, Martinez FD. Tucson Children's Respiratory Study: 1980 to present. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111(4): 661-75.
 23. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J.* 1998; 12(2): 315-35.
 24. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Lancet.* 1998; 351(9111): 1225-32.
 25. Aguinaga Ontoso I, Arnedo Pena A, Bellido J, Guillén Grima F, Suárez Varela MM. The prevalence of asthma-related symptoms in 13-14-year-old children from 9 Spanish populations. The Spanish Group of the ISAAC Study (International Study of Asthma and Allergies in Childhood). *Med Clin (Barc).* 1999; 112: 171-5.
 26. García-Marcos L, Quirós AB, Hernández GG, Guillén-Grima F, Díaz CG, Ureña IC, et al. Stabilization of asthma prevalence among adolescents and increase among schoolchildren (ISAAC phases I and III) in Spain. *Allergy.* 2004; 59(12): 1301-7.
 27. Carvajal-Urueña I, García-Marcos L, Busquets-Monge R, Morales Suárez-Varela M, García de Andoin N, Batlles-Garrido J, et al. Geographic variation in the prevalence of asthma symptoms in Spanish children and adolescents. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase 3, Spain. *Arch Bronconeumol.* 2005; 41(12): 659-66.
 28. Mallol J, García-Marcos L. Observatorio del Estudio Internacional de Sibilancias en Lactantes (EISL); 2007.
 29. Mallol J, García-Marcos L, Aguirre V, Martínez-Torres A, Perez-Fernández V, Gallardo A, et al. The International Study of Wheezing in Infants: questionnaire validation. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007; 144(1): 44-50.
 30. Jenkins MA, Clarke JR, Carlin JB, Robertson CF, Hopper JL, Dalton MF, et al. Validation of questionnaire and bronchial hyperresponsiveness against respiratory physician assessment in the diagnosis of asthma. *Int J Epidemiol.* 1996; 25(3): 609-16.
 31. Asher MI, Keil U, Anderson HR, Beasley R, Crane J, Martinez F et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J.* 1995; 8(3): 483-91.