

# Histiocitosis de células de Langerhans. Informe de un caso y revisión de la literatura

Sandra Liliana Cortés Vera\*

## Resumen

Se presenta el caso de un niño con una forma multisistémica de histiocitosis de células de Langerhans, con compromiso pulmonar avanzado, en quien las lesiones cutáneas llevaron a sospechar la enfermedad y a confirmar el diagnóstico mediante una biopsia del cuero cabelludo. El inicio de la quimioterapia permitió la evolución favorable del paciente. [Cortés SL. Histiocitosis de células de Langerhans. Informe de un caso y revisión de la literatura. MEDUNAB 2002; 5(14):95-99].

**Palabras clave:** Histiocitosis, células de Langerhans, gránulos de Birbeck.

## Reporte del caso

Se describe el caso de un paciente de género masculino, de 21 meses de edad, quien fue llevado a un hospital de primer nivel por presentar un cuadro clínico de 20 días de evolución de fiebre alta, disnea y emesis de contenido alimentario. Tenía como antecedentes personales un ductus arterial persistente con hipertensión pulmonar secundaria, por lo que fue hospitalizado al nacimiento; presentó como complicación una neumonía nosocomial, que requirió intubación orotraqueal por 20 días y dejó como secuela una displasia broncopulmonar, necesitando oxígeno permanente durante un mes. La radiografía de tórax evidenciaba opacidades alveolares, en ambas bases y en el ápice izquierdo, y signos de enfermedad pulmonar crónica, con lo cual se hizo un diagnóstico de neumonía y se inició manejo con diversos esquemas de antibióticos parenterales, pese a lo cual hubo deterioro progresivo del estado clínico del paciente y persistencia del cuadro febril, por lo cual fue remitido al hospital Fundación de La Misericordia.

Al examen físico de ingreso se encontró un paciente en regular estado general, taquicárdico, taquipnéico, con roncus y estertores en ambos campos pulmonares, hepatomegalia de 2 cm por debajo del reborde costal y lesiones eritemato-descamativas en el cuero cabelludo. Los paraclínicos mostraron un cuadro hemático con leucocitosis leve y linfocitosis, anemia moderada y plaquetas normales, unas

pruebas de química sanguínea normales, un parcial de orina normal, una prueba de tuberculina (PPD) negativa y un BK en jugo gástrico negativo. Con los hallazgos anteriores, el servicio de neumología consideró que el paciente tenía una enfermedad pulmonar intersticial de base y un proceso infeccioso sobreagregado, sugestivo de una neumonía atípica, e inició manejo con oxacilina y ceftriaxona endovenosas.

Durante la hospitalización, el paciente fue interconsultado al servicio de dermatología con diagnóstico de dermatitis seborreica. Al examen de la piel se encontró eritema intenso y difuso en el cuero cabelludo, con descamación pitiriasiforme (figura 1), y algunas pápulas eritemato-descamativas en el cuello y la parte superior del dorso. Teniendo en cuenta la extensión y la severidad del eritema en el cuero cabelludo y el contexto clínico del paciente, se consideró el diagnóstico de una histiocitosis de células de Langerhans (HCL). Se procedió a tomar una biopsia del cuero cabelludo, la cual evidenció una epidermis atrófica con escamo-costras y un infiltrado en la dermis superior compuesto por células grandes con citoplasma eosinófilo y núcleo reniforme excéntrico, que permeaban la membrana basal (figura 2). La inmunohistoquímica para S-100 fue positiva (figura 3) y la vimentina negativa.

Confirmado el diagnóstico de HCL se realizaron otros estudios complementarios. Las radiografías de cráneo y

\*Dermatóloga, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

**Correspondencia:** Dra. Cortés, calle 22B No 56-63, apartamento 902, interior 2, Bogotá, Colombia; e-mail: sanlicove@yahoo.com

**Recibido:** marzo 13/2002; aceptado: junio 24/2002.

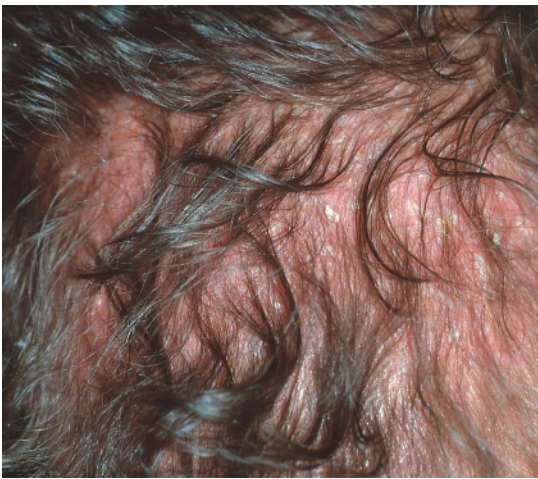


Figura 1 .Cuero cabelludo con eritema difuso y múltiples escamas amarillentas.

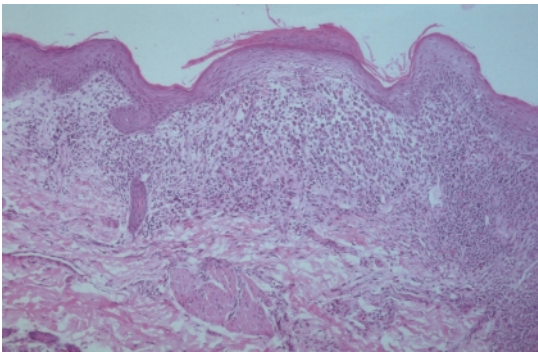


Figura 2. Biopsia del cuero cabelludo muestra epidermis atrófica con escamo-costra y dermis superior infiltrada por células grandes eosinofílicas con núcleo reniforme.

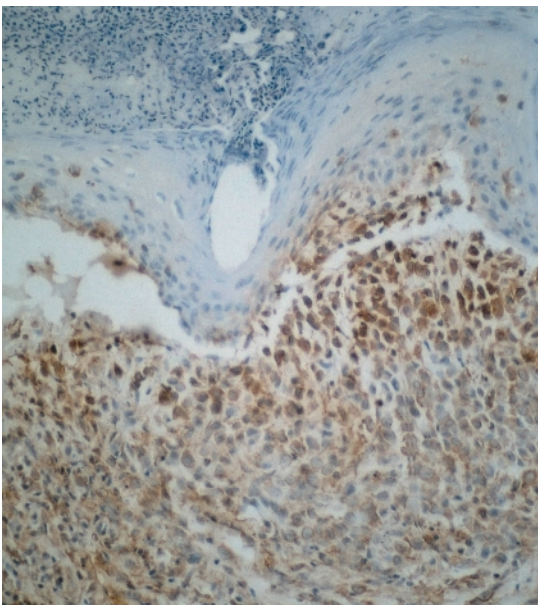


Figura 3. Inmunohistoquímica para S-100 tiñe de color marrón las células de Langerhans del infiltrado dérmico.

huesos largos fueron normales. La tomografía del tórax evidenció imágenes de compromiso intersticial severo y extenso, con múltiples lesiones quísticas perivasculares en ambos campos pulmonares, áreas en panal de abeja en el lóbulo superior derecho sugestivas de fibrosis y adenomegalias mediastinales (Figura 4). La ecografía abdominal mostró hepatomegalia difusa, sin lesiones focales. Finalmente, en la valoración estomatológica no se encontró ninguna alteración.

Con el diagnóstico de una HCL con compromiso multisistémico (pulmón, hígado y piel), el servicio de oncohematología inició el tratamiento poliquimioterapéutico con un esquema de metilprednisolona, vincristina y citarabina. El paciente inició una evolución rápida hacia la mejoría, lo cual permitió su salida con oxígeno domiciliario y controles por consulta externa.

## Discusión

Las histiocitosis comprenden un grupo de desórdenes proliferativos, reactivos o neoplásicos, de las células del sistema mononuclear-fagocítico y del sistema de células dendríticas, derivadas de los promonocitos de la médula ósea.<sup>1</sup> Actualmente, la Sociedad Internacional del Histiocito clasifica las Histiocitosis en 3 grandes grupos: la histiocitosis de células de Langerhans; las histiocitosis de células fagocito-mononucleares diferentes a las células de Langerhans, que incluyen la histiocitosis eruptiva generalizada, la histiocitosis cefálica benigna, la histiocitosis sinusoidal con linfadenopatía masiva (enfermedad de Rosai-Dorfman), la reticulohistiocitosis multicéntrica, el xantogranuloma juvenil, el xantoma disseminatum, el xantoma papular y el xantogranuloma necrobiótico; y los desórdenes histiocíticos malignos, que comprenden la leucemia monocítica aguda, la histiocitosis maligna y el linfoma histiocítico.<sup>1</sup>

El primer caso de HCL fue reportado en 1893 por Hand y se caracterizó por una tríada compuesta de defectos en el cráneo, exoftalmos y diabetes insípida; posteriormente, Schuller (1915) reportó 3 casos y Christian (1919) un caso. En 1924 y 1933, Letterer y Siwe reportaron casos con compromiso óseo y de otros órganos como piel, pulmón, hígado, bazo y ganglios. Por esta razón, a la forma multisistémica diseminada y aguda de HCL se le denominó enfermedad de Hand-Schuller-Christian, y a la forma multifocal, progresiva y crónica, enfermedad de Letterer-Siwe. Luego se describieron otras dos formas, una benigna y localizada llamada granuloma eosinofílico, y una congénita y autolimitada descrita por Hashimoto-Pritzker.<sup>4</sup> En 1953, Lichtenstein consideró que todas las entidades anteriores correspondían a manifestaciones clínicas diferentes de una misma enfermedad, que con frecuencia se superponían y tenían un pronóstico diferente, y las agrupó bajo el término de histiocitosis X. En 1973, Nezelof y colaboradores propusieron a las CL como responsables de la enfermedad y la

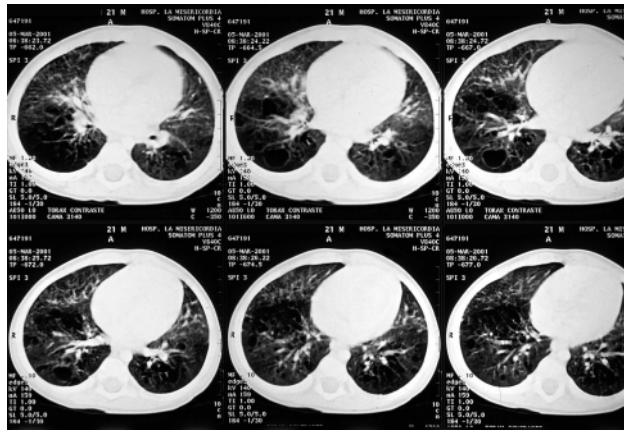


Figura 4. TAC del tórax evidencia cavidades quísticas perivascuales e imagen en panel de abejas.

denominaron HCL.<sup>4</sup> Desde entonces, la HCL es reconocida como una enfermedad espectral que puede variar desde el compromiso asintomático y autorresolutivo de un solo órgano o sistema hasta el compromiso multisistémico, crónico y progresivo o agudo y fatal.<sup>1-3</sup>

La HCL es una enfermedad de etiología desconocida, caracterizada por la proliferación y acumulación, en uno o varios órganos, de histiocitos que expresan los marcadores fenotípicos de las células de Langerhans (CL) normales de la epidermis, pero que son funcionalmente defectuosos.<sup>2</sup> Las CL son responsables del procesamiento y la presentación de antígenos a los linfocitos T (LT) en las reacciones de inmunidad mediada por células. Se caracterizan por expresar la proteína S-100 y el antígeno CD1a, y por contener en su citoplasma unos gránulos de estructura trilaminar derivada de la membrana citoplasmática, conocidos como gránulos de Birbeck. Su migración y desarrollo es controlado por el factor estimulante de colonias granulocito-macrófago (FSC-GM) y el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- $\alpha$ ).<sup>3</sup>

Se han formulado diversas hipótesis respecto a la etiología de la HCL. Una hipótesis basada en estudios inmunogenéticos considera que se trata de un desorden neoplásico clonal, derivado de mutaciones somáticas que inducen la proliferación de CL o de sus precursores en la médula ósea y otros órganos, aunque no se han encontrado rearrreglos clonales en el gen del receptor de LT.<sup>1</sup> Otra hipótesis postula que puede haber una proliferación no neoplásica de CL secundaria a la activación exagerada o no controlada de citocinas, ya que se han encontrado niveles aumentados de FSC-GM, FNT- $\alpha$  e interleucina-2 en los tejidos afectados, o reactiva a una infección de tipo viral, pues se ha detectado DNA del herpes virus tipo 6 en algunos casos.<sup>1</sup> Además, parece existir un desorden en la regulación inmune como lo demuestran casos de HCL asociada con inmunodeficiencias sistémicas como hipogamaglobulinemia, disminución de la respuesta de

LT a mitógenos, disminución de LT supresores y disminución de la citotoxicidad mediada por monocitos y dependiente de anticuerpos, aunque los resultados de los tests de anergia y sensibilidad de contacto cutáneas han sido variables.<sup>3</sup> Finalmente, se han informado algunos casos familiares de HCL en hermanos y gemelos y se ha demostrado una asociación significativa con el HLA-B7 que permiten suponer la existencia de una susceptibilidad genética aumentada a la disregulación inmune ante diferentes estímulos.<sup>2</sup>

La HCL puede ocurrir a cualquier edad y tiene un pico de incidencia entre los 1 a 4 años de edad, iniciándose el 60% de los casos antes de los 3 años.<sup>1,2</sup> La prevalencia en niños es de 0.2 a 0.5 por 100.000.<sup>1</sup> La distribución por géneros es similar, con un leve predominio en el género masculino (proporción de 1.8 hombres por 1 mujer) y una mayor morbimortalidad dada la alta frecuencia de compromiso visceral, posiblemente debido a un gen inmunoregulador ligado al cromosoma X.<sup>2</sup> Los órganos más afectados en orden descendente son: hueso cortical, piel, sistema nervioso central, médula ósea, mucosa oral, ganglios, bazo, hígado, pulmón, intestino y timo.<sup>2</sup> Según la extensión del compromiso orgánico, la enfermedad puede dividirse en HCL limitada o localizada, que por lo general tiene un curso clínico benigno con remisiones espontáneas, e HCL extensa o diseminada, con un curso progresivo y ocasionalmente fatal.<sup>1</sup>

Las lesiones cutáneas se presentan en más del 30% de los niños, con frecuencia son el primer signo de la enfermedad, y se caracterizan por pápulas pardo-eritematosas o amarillentas, descamativas, localizadas en tronco, cuero cabelludo, región lumbosacra y áreas intertriginosas, que pueden confluir formando placas de apariencia xantomatosa o pueden ulcerarse dejando cicatrices hipocrómicas.<sup>1,5</sup> La piel es el único sitio afectado en el 10% de los pacientes, tratándose por lo general de hombres menores de un año, con lesiones autorresolutivas y recurrencias escasas;<sup>5</sup> por el contrario, los mayores de un año suelen cursar con lesiones atípicas como vesículas, pústulas o púrpuras.<sup>1,6</sup> Cabe destacar el compromiso frecuente del cuero cabelludo, como en el caso descrito, con lesiones escamo-costrosas que al ser removidas producen sangrado local; suele confundirse con entidades como la dermatitis seborreica y la tiña capitis, y puede complicarse con infecciones por dermatofitos o bacterias debido a la alteración en la respuesta inmune celular y al uso de esteroides tópicos.<sup>3</sup> De igual manera, el compromiso del conducto auditivo externo, manifestado como un eczema crónico y asociado a cuadros otitis media recurrente, debe llevar a sospechar la enfermedad.<sup>5</sup>

Las lesiones óseas se presentan en el 80 al 100% de los pacientes,<sup>4</sup> principalmente niños mayores y adultos jóvenes, manifestándose de forma inicial como un edema doloroso.<sup>1</sup> El cráneo es el sitio más afectado, seguido por los huesos largos de los miembros superiores y los huesos planos como

costillas, pelvis y vértebras.<sup>1</sup> En las radiografías pueden observarse lesiones líticas irregulares, únicas o múltiples, y esclerosis periférica que suele ser un signo inicial de resolución.<sup>5</sup> Las complicaciones asociadas dependen de la localización de las lesiones líticas e incluyen otitis media crónica y sordera por extensión del compromiso de la mastoides, encías edematosas y dolorosas con dientes flotantes por compromiso mandibular, exoftalmos por compromiso de la órbita, y compresión y aplastamiento de los cuerpos vertebrales.<sup>1,5</sup>

El compromiso pulmonar afecta hasta un 50% de los niños, aunque es más frecuente en la tercera década de vida, y se manifiesta por taquipnea, disnea, tos, fiebre y caquexia. Los estudios radiológicos del tórax muestran infiltrados intersticiales micronodulares difusos en etapas tempranas, y un patrón en panal de abeja con grandes bulas, e incluso neumotórax, en etapas más avanzadas; en etapas tardías hay cambios de enfisema y fibrosis intersticial.<sup>1,5</sup>

La alteración endocrinológica más frecuente es la diabetes insípida, la cual puede presentarse anterior, simultánea o posterior a las lesiones extracraniales, pero en la mayoría de los casos ocurre un año después del inicio de la enfermedad y es más frecuente en pacientes con lesiones líticas del cráneo y enfermedad multisistémica.<sup>1,5</sup> La presencia de poliuria y polidipsia en los niños debe hacer sospechar una diabetes insípida secundaria a una HCL, y el diagnóstico debe confirmarse mediante el test de deprivación hídrica y la medición plasmática o urinaria de vasopresina, aunque la resonancia con gadolinio puede mostrar un engrosamiento de la silla turca (>2.5 cm) o ausencia de la hipófisis posterior.<sup>5</sup> Puede encontrarse retardo en el crecimiento, la mayoría de casos asociados a malabsorción y corticoterapia prolongada, y sólo un 1% secundarios al déficit de la hormona del crecimiento por compromiso de la hipófisis anterior, usualmente un año después del inicio de la diabetes insípida.<sup>1,5</sup> Otros signos de compromiso neurológico como hipertensión endocraneana, convulsiones, ataxia o compromiso de pares craneales son infrecuentes.<sup>1</sup>

El compromiso ganglionar puede presentarse en las formas óseas y cutáneas localizadas o en las formas diseminadas; el 10% de los niños cursan con adenopatías desde el inicio de la enfermedad y los ganglios cervicales son los más afectados.<sup>1,5</sup> La hepatomegalia puede ser producida por infiltración de las CL o por colestasis secundaria a linfadenomegalia portal masiva, que puede progresar a infiltración portal, colangitis, fibrosis y cirrosis.<sup>1,5</sup> La esplenomegalia se presenta desde el inicio de la enfermedad en el 5% de los pacientes y puede contribuir a la pancitopenia producida por la infiltración de la médula ósea.<sup>5</sup>

El compromiso gastrointestinal es infrecuente en los niños, se manifiesta con emesis, diarrea, enteropatía perdedora de proteínas y malabsorción, y alternancia de áreas intestinales estenóticas y dilatadas en la radiología. Sin embargo, el

diagnóstico debe confirmarse a través del estudio histopatológico de una biopsia tomada mediante endoscopia.<sup>1</sup>

La forma congénita de la HCL es rara y polimorfa. Se puede presentar al nacimiento o en el período neonatal como pápulas o nódulos, únicos o múltiples, que involucionan de manera espontánea en la mayoría de los casos. También existe una forma pápulo-vesicular generalizada que se confunde con varicela o herpes simple diseminado, y en la cual es útil la realización del test de Tzank que permite identificar los histiocitos epitelioides.<sup>7</sup>

La histopatología de las lesiones cutáneas varía según el tiempo de evolución de las lesiones, aunque los diversos patrones pueden encontrarse de forma simultánea. En lesiones tempranas se observa un patrón proliferativo con infiltración extensa de la dermis superior por CL y atrofia epidérmica, en lesiones desarrolladas hay un patrón granulomatoso con CL, células multinucleadas y eosinófilos, y en lesiones tardías existe un patrón xantomatoso con CL, eosinófilos e histiocitos espumosos y multinucleados.<sup>8</sup> Las CL son 4-5 veces más grandes que los linfocitos, tienen un núcleo reniforme y vesiculado, un citoplasma amplio y eosinofílico, y el 50% presenta gránulos de Birbeck. Las CL de la HCL son positivas para S-100, CD1a, CD4 y CD68 como las CL normales, pero se diferencian de éstas por la expresión de fosfatasa alcalina placentaria, aglutinina del maní y receptor para interferón gamma en su superficie.<sup>8</sup>

A todo paciente en quien se sospeche una HCL se le deben realizar como paraclínicos básicos un cuadro hemático, un perfil completo de química sanguínea y radiografías de tórax, cráneo y huesos largos, y dependiendo de los hallazgos se solicitan otros paraclínicos como tomografías de tórax, abdomen y cráneo, pruebas de función pulmonar y aspirado de médula ósea.<sup>8</sup> El diagnóstico definitivo de la HCL requiere de la observación de las CL en el estudio histopatológico de rutina con hematoxilina-eosina y microscopía de luz y la demostración de la positividad de estas células para S-100 y CD1a mediante las coloraciones de inmunohistoquímica; en casos de difícil diagnóstico debe buscarse la presencia de los gránulos de Birbeck en la microscopía electrónica.<sup>1</sup>

El diagnóstico diferencial incluye algunas de las histiocitosis de células no Langerhans como la enfermedad de Rosai-Dorfman, el xantogranuloma juvenil y la histiocitosis eruptiva generalizada, y otras entidades como la dermatitis seborreica y la enfermedad de Darier.<sup>5,8</sup>

La morbilidad y el pronóstico dependen de la edad de inicio de la enfermedad, los signos clínicos iniciales y la extensión del compromiso orgánico.<sup>1,5</sup> Recientemente se ha identificado que la ausencia de respuesta rápida al tratamiento, mejoría en las primeras 6 semanas de instaurada la quimioterapia, es otro indicador pronóstico en la HCL multisistémica.<sup>9</sup> La mortalidad es mayor en

los menores de 2 años con enfermedad multisistémica (55-60%), mientras la mayoría de los mayores de 3 años logran sobrevivir.<sup>1,5</sup> Las manifestaciones objetivas de disfunción orgánica, más que el número de órganos afectados, son signos de mal pronóstico y comprenden la presencia de tos, taquipnea, disnea, cianosis, neumotórax, derrame pleural no infeccioso, edema, ascitis, hipoproteinemia, hiperbilirrubinemia, anemia no ferropénica, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia e hipercalcemia.<sup>1,2,4,5</sup> Las anomalías imagenológicas en pulmón, hígado y médula ósea o la presencia de numerosas CL en el aspirado de médula ósea no son evidencia suficiente de disfunción orgánica.<sup>1</sup>

El tratamiento debe individualizarse y dependerá de los órganos o sistemas comprometidos, la edad del paciente y los riesgos percibidos.<sup>5</sup> Desde 1980, en Estados Unidos y Europa se realiza el diagnóstico, la clasificación y el estadiaje de la enfermedad y se aplican protocolos terapéuticos estandarizados.<sup>4</sup> En la HCL cutánea localizada, los esteroides tópicos constituyen la primera opción terapéutica, reservándose la monoquimioterapia tópica o sistémica y la fotoquimioterapia para casos resistentes.<sup>1</sup> Las lesiones óseas únicas, que no resuelven espontáneamente en el curso de meses a años, deben manejarse mediante curetaje o resección quirúrgica; en caso de dolor severo y posibilidad de deformidad o discapacidad se deben adicionar corticoides intralesionales en lesiones simples y quimioterapia en lesiones múltiples.<sup>1</sup>

El compromiso ganglionar exclusivo no requiere tratamiento, ya que suele resolverse en forma espontánea.<sup>1</sup> En la HCL multisistémica sin evidencia de disfunción orgánica se recomienda iniciar esteroides sistémicos y cuando existe disfunción orgánica iniciar poli-quimioterapia, con o sin esteroides; la principal ventaja de la quimioterapia es que induce remisiones en los períodos críticos de riesgo, con mejorías parciales en el 50 a 60% de los casos.<sup>1</sup> La prednisona, la vinblastina y el etopósido son los agentes más efectivos;<sup>4</sup> estos últimos son semejantes en tasa de respuesta, toxicidad, sobrevida y recurrencias.<sup>9</sup> Otros agentes como la ciclosporina y la 2-clorodeoxyadenosina, inhibidores selectivos de la respuesta inmune, deben reservarse para pacientes que no responden al tratamiento convencional, y los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno CD1a se encuentran aún en estudio, pero prometen ser muy efectivos.<sup>1</sup>

Finalmente, la diabetes insípida requiere de tratamiento específico con un análogo sintético de la vasopresina (desmopresina), pues el efecto de la quimioterapia sobre la aparición o progresión de la misma no ha sido determinado.<sup>1</sup>

La calidad de vida de los pacientes con HCL dependerá de las secuelas del daño orgánico producido por la enfermedad y del tratamiento instaurado. En los escasos estudios publicados al respecto, se informan un 30 a 50% de pacientes con secuelas como deformidades óseas, trastornos

endocrinológicos, deterioro intelectual y síntomas neurológicos.<sup>1,2,5</sup> No existe evidencia sobre la prevención de dichas secuelas con el tratamiento prolongado, excepto en el caso de la diabetes insípida.<sup>1</sup> De otra parte, aunque la incidencia de neoplasias como consecuencia de la quimioterapia es menor al 5%, faltan estudios que determinen la dosis de antineoplásicos menos leucemogénica.<sup>5</sup> Por último, dado que se han observado reactivaciones tardías de la enfermedad en pacientes considerados "curados", es fundamental hacer un seguimiento estricto de todos los pacientes mediante un examen físico completo y estudios paraclínicos periódicos.<sup>1,5</sup>

En conclusión, la HCL es una enfermedad espectral que puede manifestarse con diversos cuadros clínicos según la extensión y la severidad del compromiso orgánico y en la cual las lesiones cutáneas características pueden constituirse en una herramienta diagnóstica útil, ya sea cuando aparecen como la primera manifestación de la enfermedad o asociadas a manifestaciones sistémicas, como en el caso presentado en que llevaron a sospechar y confirmar la enfermedad, permitiendo iniciar el tratamiento adecuado.

## Summary

**Langerhans cell histiocytosis.** A case report and literature review. We present a boy with a multisystemic presentation of Langerhans cell histiocytosis and severe pulmonary lesion. Skin lesion helped to suspect and confirm diagnosis by scalp biopsy. Chemotherapy was important for favorable result.

**Key words:** Histiocytosis, Langerhans cell, Birbeck's granule

## Referencias

1. Egeler RM, D'Angio GJ. Langerhans cell histiocytosis. *J Pediatr* 1995; 127:1-11.
2. Yu RC, Chu AC. Langerhans cell histiocytosis: clinicopathological reappraisal and human leucocyte antigen association. *Br J Dermatol* 1996; 135:36-41.
3. Pakula AS, Paller AS. Langerhans cell histiocytosis and dermatophytosis. *J Am Acad Dermatol* 1993; 29:340-3.
4. Lampert F. Langerhans cell histiocytosis: historical perspectives. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998; 12:213-9.
5. Arico M, Egeler RM. Clinical aspects of Langerhans cell histiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998; 12:247-58.
6. Gottlöber P, Weber L, Behnisch W, et al. Langerhans cell histiocytosis in a child presenting as a pustular eruption. *Br J Dermatol* 2000; 142:1234-35.
7. Colon-Fontanez F, Eichenfield LF, Krous HF. Congenital Langerhans cell histiocytosis: the utility of the Tzanck test as a diagnostic screening tool. *Arch Dermatol* 1998; 134:1039-40.
8. Caputo R. Langerhans cell histiocytosis. En: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, et al. *Dermatology in General Medicine*. McGraw-Hill, 1999:1882-92.9
9. Gardner H, Grois N, Arico M, et al. A randomized trial of treatment for multisystem Langerhans cell histiocytosis. *J Pediatr* 2001; 138:728-34.