

11237

16

26



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES
HOSPITAL GENERAL CENTRO MEDICO
"LA RAZA" IMSS
CURSO DE ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA MEDICA

"GM - CSF EN EL TRATAMIENTO DE LA SEPTICEMIA
BACTERIANA NEONATAL GRAVE EN PACIENTES
NEUTROPENICOS"

TESIS RECEPCIONAL
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA MEDICA
P R E S E N T A :
DRA. ADRIANA ROCIO BARRERA SANCHEZ



ASESOR: DR. JOSE VICENTE ESTRADA FLORES

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

COLABORADORES

DR. CARLOS ANTONIO TAPIA ROMBO

DRA. MA. TERESA DUEÑAS

DR. JUAN MANUEL FERNANDEZ CELIS

INDICE

DEDICATORIAS	1
TITULO	2
ABREVIATURAS	3
INTRODUCCION	4
MATERIAL Y METODO	8
RESULTADOS	11
DISCUSION	13
TABLAS Y GRAFICAS	16
BIBLIOGRAFIA	35

DEDICATORIAS

A DIOS :

POR DARMÉ EL DON DE LA VIDA Y LA LUZ QUE ILUMINA.

A MIS PADRES :

POR SU AMOR, APOYO Y CONFIANZA.

A MIS HERMANOS :

QUE ME HAN BRINDADO EN TODO MOMENTO SU
APOYO INCONDICIONAL .

A MIS AMIGOS :

POR SUS CONSEJOS, COMPRENSION Y
APOYO.

TITULO:

**“GM- CSF EN EL TRATAMIENTO DE LA
SEPTICEMIA BACTERIANA NEONATAL GRAVE
EN PACIENTES NEUTROPENICOS”**

ABREVIATURAS

GM-CSF : FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS. GRANULOCITO -
MACROFAGO. (LEUCOMAX).

PMN : POLIMORFONUCLEARES.

G-CSF : FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS GRANULOCITO

M-CSF : FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS MONOCITO.

pmol : PICOMOL.

mRNA : RNA MENSAJERO.

VSG : VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR.

mcg : MICROGRAMOS.

U.I. : UNIDADES INTERNACIONALES.

DS : DESVIACION ESTANDAR.

TNF : FACTOR DE NECROSIS TUMORAL.

DBP : DISPLASIA BRONCO PULMONAR.

GPO : GRUPO.

TAB : TABLA.

rHuGM-CSF : FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS
GRANULOCITO-MACROFAGO RECOMBINANTE HUMANO.

INTRODUCCION

En el siguiente trabajo considerando la frecuencia de septicemia neonatal en nuestro medio, la alta mortalidad secundaria a ella y la falta de tratamientos médicos con beneficios probados en la disminución de la mortalidad, es interesante investigar los efectos del GM-CSF administrado a recién nacidos a término y pretérmino con diagnóstico de septicemia bacteriana grave, acompañada de leucopenia y neutropenia y que no hayan respondido al manejo médico convencional, evaluando los efectos de este medicamento sobre la sobrevida, número de leucocitos totales y diferencial, precursores modulares granulocíticos en médula ósea y mortalidad en esta entidad nosológica.

Siendo la septicemia neonatal un síndrome clínico, caracterizado por signos de infección sistémica acompañados de bacteremia, en el primer mes de vida posnatal (1).

El pronóstico final de la septicemia neonatal depende de numerosos factores, incluyendo la madurez, el estado inmunológico y fisiológico del recién nacido en el momento de la infección, la presencia de condiciones perinatales predisponentes a la infección y el uso de medidas invasivas (2).

Los mecanismos de defensa inmunológica en el neonato humano y animal, son inmaduros y contribuyen a la alta incidencia de septicemia en neonatos a término y pretérmino (1-10 por 1000 nacidos vivos) (2) ; constituyendo la septicemia neonatal , la 1a. causa de ingreso a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital General del Centro Médico "La Raza" y la quinta causa de mortalidad en dicho servicio, con un promedio de 60 ingresos y 25 defunciones anuales por esta entidad, además de los pacientes que cursan con un proceso infeccioso agregado a otras causas de ingreso al servicio.

Las dos diferencias más importantes que parecen aumentar el riesgo de septicemia bacteriana en el recién nacido son: los defectos en la inmunidad mediada por anticuerpos y los cambios cuantitativos y cualitativos en el sistema fagocítico (2,3).

Además, la reserva medular de neutrófilos (polimorfonucleares, bandas y metamielocitos) es sólo el 25% comparada con la del adulto lo que predispone a depleción medular en recién nacidos con septicemia grave y es un factor de importancia en la sobrevida (4).

Durante la septicemia neonatal, aún el número adecuado de PMN puede ser insuficiente debido a que su capacidad de función está alterada. Se han demostrado, *in vitro* e *in vivo*, múltiples anomalías en los PMN del recién nacido, especialmente en momentos de estrés o infección. Estas anomalías incluyen alteraciones en la activación de los PMN, quimiotaxis disminuida, reducción en la deformabilidad, menor capacidad de fagocitosis, reducción en la capacidad de expresión de receptores de membrana (C3bi), disminución en la adherencia, reducción de la actividad bactericida intracelular de bacterias y depresión del metabolismo oxidativo (producción de radicales superóxido e hidroxilo) (2,5,6).

Se ha descubierto que la división celular de los precursores medulares hematopoyéticos depende del aporte continuo o intermitente de factores proteicos altamente específicos. Estos factores promotores del crecimiento actúan como reguladores de la hematopoyesis y han sido llamados "factores estimulantes de colonias". (8).

Dos clases de factores son importantes para el desarrollo de las células hematopoyéticas. Los factores clase I: multi-CSF o interleucina 3 y CSF granulocito-macrófago (GM-CSF) actúan sobre células progenitoras inmaduras y pluripotenciales. Estos factores son específicos de líneas celulares, pero importantes para la auto-renovación y proliferación, y contribuyen poco a la diferenciación celular.

Los factores clase II: G-CSF, M-CSF y la eritropoyetina, actúan sobre las células progenitoras maduras y generalmente sólo se requieren durante las últimas fases del desarrollo celular específico; influyen en la proliferación, liberación y diferenciación de las células progenitoras finales y afectan la función y supervivencia de las células maduras en la sangre periférica (12).

La habilidad del rHuGM-CSF para estimular la proliferación celular, aparentemente disminuye conforme aumenta el grado de glucosilación (18).

Se han identificado dos clases diferentes de receptores para el GM-CSF: una clase de receptores tiene alta afinidad de unión (kD 30 pmol) y el otro tiene baja afinidad de unión (kD 1 mol). Se han identificado varios cambios bioquímicos dentro de los progenitores mieloides después de la exposición a rHuGM-CSF. Estos incluyen aumentos en los niveles de sodio/potasio ATPasa, ácido araquidónico y productos de la lipooxigenasa, así como aumentos en la utilización de glucosa, liberación de prostaglandina E, síntesis de RNA, síntesis de proteínas nucleares y expresión de mRNA para los proto-oncogenes *c-myc*,

c-fos y c-myb. En ausencia de GM-CSF, los granulocitos, macrófagos y sus progenitores, mueren rápidamente, con vidas medias de sólo 6-24 hrs.

La concentración de GM-CSF necesaria para mantener la viabilidad celular es mucho menor que la necesaria para aumentar la proliferación. En presencia de GM-CSF las células progenitoras hematopoyéticas quedan comprometidas en las líneas celulares granulocito y macrófago resultando en la formación de neutrófilos, eosinófilos y macrófagos. Esta hormona también afecta los precursores eritroides y megacariocíticos. (18).

La tasa y número de divisiones celulares, así como el compromiso de la línea, dependen de la concentración de GM-CSF en un rango de 1 a 1000 pmol. In vivo, el GM-CSF aumenta también, el número de células progenitoras mieloides circulantes.

La administración de GM-CSF recombinante a humanos causa un aumento bifásico en el número de leucocitos. Hay una caída inmediata y transitoria en los neutrófilos circulantes, eosinófilos, y monocitos, seguida por la recuperación a niveles basales en 1-2 horas. Esta respuesta se ve aún con dosis bajas de GM-CSF y ocurre con cada administración.

Estudios con leucocitos marcados con radionúclidos en pacientes tratados con MG-CSF han mostrado secuestro de los leucocitos en los capilares pulmonares, lo que brinda una posible explicación de la disminución de los leucocitos después de la administración del medicamento. La administración continua de GM-CSF produce leucocitosis progresiva seguida por otra disminución transitoria en el número de leucocitos. Sigue una segunda fase de aumento en el número leucocitario seguido por una marcada desviación a la izquierda en la diferencial (hacia células más maduras). Este patrón bifásico de respuesta leucocitaria se piensa sea el resultado de la demarginación inicial y liberación de neutrófilos de las reservas medulares, seguido por un aumento en la producción medular (18).

Una variedad de tipos celulares, muchos de los cuales están presentes en los sitios de inflamación, producen esta hormona cuando son estimulados. Estos incluyen linfocitos T, macrófagos y monocitos, células endoteliales, osteoblastos, células musculares lisas, fibroblastos, trofoblastos y ciertos tipos de células tumorales (18-21).

Las propiedades biológicas observadas del GM-CSF sugieren que esta hormona puede ser útil en el manejo de una variedad de condiciones que incluyen: enfermedades infecciosas, síndrome de insuficiencia de médula ósea, neutropenia crónica, y supresión medular secundaria a fármacos. En seres

humanos, el GM-CSF ha sido utilizado en el manejo de anemia aplásica. En neutropenia congénita sintomática, en neutropenia inducida por fármacos, en trasplante de médula ósea y en neutropenia asociada a infección por virus de inmunodeficiencia humana (18,40-44); aunque sus usos potenciales son múltiples, particularmente los relacionados al tratamiento de enfermedades infecciosas (43).

Las posibilidades terapéuticas de la septicemia bacteriana en el recién nacido con GM-CSF son amplias; han demostrado el efecto protector del GM-CSF en infecciones por *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococo* del grupo B tipo III (25-27).

En humanos, el GM-CSF ha sido utilizado ampliamente en el tratamiento de neutropenia de cualquier origen, sobre todo asociada a infección crónica en pacientes hematológicos u oncológicos (18,44).

Los efectos secundarios son mínimos e incluyen dolor óseo, letargia, fiebre, eritema facial y discreto aumento de peso el día de la administración, casi todos ellos asociados con la administración prolongada del medicamento. Con la administración breve tan sólo se han reportado eritema facial y fiebre que no impiden continuar el tratamiento (44). Es posible que la aparición de efectos secundarios esté relacionada con la dosis administrada del medicamento, se ha observado que dosis de 10 mcg/kg/día son suficientes para una máxima estimulación y están casi desprovistos de efectos graves. Dosis mayores de 30 mcg/kg/día se han asociado con la aparición de un síndrome de serositis diseminada (pleuritis, pericarditis, etc.) (39).

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 32 pacientes recién nacidos con diagnóstico de septicemia bacteriana neonatal grave que ingresaron al servicio de Neonatología del Hospital General del Centro Médico la Raza, en un período comprendido entre el primero de febrero a octubre de 1995.

Se formaron 2 grupos. El grupo control fue de 14 pacientes (6 masculinos y 8 femeninos) y el grupo GM-CSF (10 masculinos y 8 femeninos), (tabla 1; gráfica 1).

Los criterios de inclusión fueron:

1) Recién nacidos de sexo masculino y femenino entre 26-42 semanas de edad gestacional, menores de 30 días de edad posnatal para los recién nacidos a término y menores de 36 semanas de edad posconcepcional corregida para los pretérmino.

2) Con diagnóstico de septicemia neonatal.

3) Presencia de leucopenia de $5 \times 10^9/L$, y neutropenia menor de $1.5 \times 10^9/L$.

4) Falta de respuesta al tratamiento médico convencional.

5) Autorización por parte de los familiares, tomándose en consideración la declaración de Helsinki.

Los criterios de no inclusión fueron:

1) Recién nacidos menores de 26 semanas de edad gestacional, mayores de 30 días de edad posnatal para los de término y mayores de 36 semanas de edad posconcepcional corregida para los pretérmino.

2) Con malformaciones congénitas incompatibles con la vida.

3) Familiares que no aceptaron su inclusión en el estudio.

Los criterios de exclusión fueron:

1) Pacientes que no completaron el esquema de tratamiento.

2) Pacientes que fallecieron por causas distintas a la septicemia durante la realización del estudio.

3) Pacientes cuyos familiares decidieron su retiro del estudio.

El diagnóstico de septicemia neonatal grave se consideró en base a:

a)Factores de riesgo: infección materna de cualquier tipo en la semana previa al nacimiento, ruptura prematura de membranas mayor de 24 horas, parto fortuito, corioamnioitis o fiebre materna.

b)Datos clínicos de infección: rechazo a la alimentación, mal estado general, fiebre, irritabilidad, hiporreactividad, distermias, apneas, crisis convulsivas, datos de choque séptico, acidosis persistente.

c)Datos paraclínicos: leucocitos $> 30 \times 10^9/L$ en los primeros 3 días de edad, leucopenia $< 5 \times 10^9/L$, neutropenia $< 1.5 \times 10^9/L$, relación bandas/neutrófilos > 0.2 , relación inmaduros/maduros > 0.15 , VSG > 15 mm/h, proteína C-reactiva > 0.9 mg/dl, trombocitopenia $< 100 \times 10^3/mm^3$, fibrinógeno < 150 mg / dl , considerándose como diagnóstico de septicemia una calificación \geq a 9 puntos (ver cuadro I).

d)Datos de certeza: hemocultivo con desarrollo bacteriano.

Se consideró la falta de respuesta al tratamiento médico convencional a la persistencia en los índices hematológicos de infección con una calificación mayor o igual a 9, hemocultivo con persistencia en el crecimiento bacteriano y la presencia de inestabilidad hemodinámica y/o acidosis metabólica persistente.

Se administró GM-CSF (leucomax) a dosis de 10 mcg / kilogramo diluido en 20 ml de solución glucosada al 5% durante 20 minutos por tres días cada 24 horas (dosis elegida para lograr el máximo efecto sobre la respuesta leucocitaria con los mínimos efectos secundarios posibles, considerándose que el medicamento no se había utilizado previamente en recién nacidos con septicemia aguda grave) (29). Posteriormente se tomó biometría hemática completa al momento del diagnóstico (basal), a las 24, 48 y 72 hrs (1 ml de sangre extraída por toma) durante los 3 días de la administración del medicamento, teniéndose en consideración el número de leucocitos y la diferencial. Los datos obtenidos se vaciaron en hoja especial de recolección de datos.

Se realizó la estadística descriptiva (en base a medidas de tendencia central y de dispersión). El análisis inferencial se efectuó mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) para las variables escalares, así como la U de Mann-Whitney y t de student. Se consideró diferencia significativa con una $p \leq$ a 0.05, y como método estadístico aleatorio el de "juego con el ganador" (57-

58) en el que la asignación de los pacientes a una modalidad terapéutica o a otra dependerá del resultado final de los pacientes previamente enrolados, evitando de esta manera el no dar el tratamiento benéfico a pacientes que podrían sobrevivir si se les hubiera instituido tal tratamiento. Para el análisis estadístico se utilizó "True Epistat" para PC (computadora personal) de Tracy Gustafson, MD, 1987.

RESULTADOS

Se tomaron en consideración diversas variables tales como peso, edad gestacional, mortalidad/sobrevida, edad de vida extrauterina al momento del diagnóstico, expresados tanto en el grupo control como en el GM-CSF. Así mismo los promedios y desviaciones estándar de cada grupo (tabla 2a, tabla 2b).

La media de peso para el grupo control fue de $1.716g \pm 580$ mientras que el grupo GM-CSF fue de $1.784g \pm 815$, sin encontrarse diferencia significativa (gráfica 2).

La media para la edad gestacional en semanas fue de 33 ± 3.1 para el grupo control y de 33.2 ± 4 para el GM-CSF, sin haber diferencia significativa (gráfica 3).

En cuanto a la edad de ingreso en el momento del diagnóstico fue de 13.14 ± 8.1 días para el grupo control y de 13.16 ± 6.8 días para el GM-CSF, igualmente no mostró diferencia significativa (gráfica 4).

La mortalidad/sobrevida en el grupo control fue de 7 finados y 7 vivos, mientras que en el GM-CSF fueron 2 finados y 16 vivos, con diferencia significativa (gráfica 5).

Los leucocitos en el grupo control y en el GM-CSF por paciente en el momento del diagnóstico (basal), a las 24, 48, y 72 horas, se pueden apreciar en la tabla 3. El promedio inicial (basal) fue de $3.050 \pm 1.267 \times 10^9/L$ para el grupo control y para el GM-CSF de $2.748 \pm 1.137 \times 10^9/L$, con $t=0.75$ y $p=0.45$ sin haber diferencia significativa. En el primer día (24 horas) en los leucocitos del grupo control la media fue de $2.353 \pm 1.012 \times 10^9/L$ y de $2.873 \pm 1.054 \times 10^9/L$ para el GM-CSF, sin encontrarse diferencia significativa ($p=0.19$). En el segundo día (48 horas) en los leucocitos del grupo control la media fue de 2.153 ± 1.181 con mediana de $1.725 \times 10^9/L$ mientras que en el grupo GM-CSF la media fue de 8.886 ± 4.198 con mediana de $7.975 \times 10^9/L$, con diferencia significativa, por una U de Mann-Whitney de 250.5 y $p < 0.001$. En el tercer día (72 horas) en los leucocitos del grupo control la media fue de 3.833 ± 2.503 con mediana de $3.575 \times 10^9/L$ mientras que en el grupo GM-CSF la media de 13.422 ± 4.393 con mediana de $13.2 \times 10^9/L$, con diferencia significativa por una U de Mann-Whitney de 249 y $p < 0.001$. Como se puede apreciar en la gráfica 6, y en lo mencionado previamente existe aumento significativo en los leucocitos de los pacientes del grupo GM-CSF.

Los polimorfonucleares en el grupo control y en el GM-CSF por paciente al momento del diagnóstico (basal), a las 24, 48 y 72 horas (tabla 4) tuvo una media inicial (basal) para el grupo control de $1.151 \pm .6 \times 10^9/L$ y para el GM-CSF de $1.223 \pm .59 \times 10^9/L$, con $t=0.34$ y $p=0.73$ sin haber diferencia significativa. En el primer día (24 horas) en los PMN del grupo control la media fue de $1.240 \pm .728$ con mediana de $1.464 \times 10^9/L$ mientras que en el grupo GM-CSF la media fue de $2.24 \pm .836$ con mediana de $2.075 \times 10^9/L$ con diferencia significativa por una U de Mann-Whitney de 200 y $p<0.005$. En el segundo día (48 horas) en los PMN del grupo control la media fue de 1.392 ± 1.134 con mediana de $1.16 \times 10^9/L$ mientras que en el grupo GM-CSF la media fue de 6.811 ± 3.391 con una mediana de $6.149 \times 10^9/L$, encontrándose diferencia significativa por una U de Mann-Whitney de 248 y $p<0.001$. En el tercer día (72 horas) en los PMN del grupo control la media fue de 1.895 ± 1.794 con mediana de $1.135 \times 10^9/L$ mientras que en el grupo GM-CSF la media fue de 9.182 ± 3.703 con mediana de $9.159 \times 10^9/L$, encontrándose diferencia significativa por una U de Mann-Whitney de 246 y $p<0.001$. El aumento en el número de PMN en el grupo GM-CSF se observa en la gráfica 7.

El análisis de varianza para los leucocitos dentro del grupo control mostró diferencia significativa al momento del diagnóstico (basal), a las 24, 48 y 72 horas por una $F=3.15$ y una $p=0.03$, pero ésta fue mayor cuando se hizo lo mismo en el otro grupo (GM-CSF) con una $F=48.75$ y $p<0.001$ (Ver gráfica 8a y 8b). Por otro lado los PMN dentro del grupo control al momento del diagnóstico (basal), a las 24, 48 y 72 horas resultó con una $F=1.20$ y de $p=0.31$ sin haber diferencia significativa (gráfica 9a), pero los PMN en el grupo GM-CSF al momento del diagnóstico (basal), a las 24, 48 y 72 horas si mostraron diferencia significativa por una $F=38.89$ con $p<0.001$ (gráfica 9b).

Los leucocitos y polimorfonucleares de una forma global, expresados por medias y desviaciones estándar se muestran en la tabla 5.

DISCUSION

En seres humanos el GM-CSF ha sido utilizado en el manejo de la anemia aplásica, neutropenia congénita sintomática, neutropenia inducida por fármacos, trasplante de médula ósea y neutropenia asociada a infección por virus de la inmunodeficiencia humana (18,40-44); aunque sus usos potenciales son múltiples, particularmente los relacionados al tratamiento de enfermedades infecciosas. Sus efectos relacionados a la cinética celular en médula ósea y los observados sobre la función del neutrófilo maduro, lo hacen un medicamento atractivo para el tratamiento de la septicemia neonatal grave asociada a depleción de neutrófilos.

El GM-CSF afecta la cinética de los precursores granulocíticos en médula ósea, causando entrada rápida de las células en el ciclo celular y disminuyendo el tiempo de ciclo celular hasta en un tercio. La tasa y número de divisiones celulares, así como el compromiso de línea dependen de la concentración de GM-CSF en un rango de 1 a 1000 pmol. Concentraciones mayores de GM-CSF dan por resultado un ciclo celular más corto y producen compromiso de las células progenitoras hacia la línea granulocítica (18).

Cairo, reporta aumento en la cuenta leucocitaria a las 6,24 y 48 horas después de la inyección intraperitoneal única de GM-CSF en ratas, con disminución hacia los valores normales a las 72 horas (12). En nuestro estudio, encontramos aumento en el número de neutrófilos en sangre periférica evidente a las 24 horas de iniciado el tratamiento, con incremento progresivo hasta el tercer día.

La falta de respuesta temprana antes de las 24 horas, en la cuenta leucocitaria puede haber estado relacionado con severidad del proceso infeccioso. Cannistra y colaboradores (46) han observado que la incubación de neutrófilos con TNF- α inhibe la expresión del receptor de GM-CSF, previniendo una excesiva activación de los neutrófilos en los sitios de inflamación. Es posible que las elevadas concentraciones de TNF- α durante la septicemia bacteriana grave (47) juegue un papel similar sobre los precursores granulocíticos en médula ósea, inhibiendo o retardando la multiplicación y diferenciación celular temprana con la administración del GM-CSF.

La mejoría clínica fue evidente en nuestros pacientes y el efecto sobre la mortalidad significativamente diferente de lo reportado previamente, incluso en pacientes tratados con inmunoglobulinas (10,11).

El hecho de que nuestra población haya comprendido pacientes con fuerte sospecha de septicemia bacteriana o con septicemia bacteriana probada, abre expectativas promisorias en el manejo de esta patología con GM-CSF. Hay varios factores que explican la mejoría clínica y hematológica observada. Anderson y colaboradores y Shigeoka y colaboradores (48,49) evaluaron la función de los neutrófilos en recién nacidos sanos e infectados, encontrando una marcada disminución de la función leucocitaria en los pacientes sépticos. Estas alteraciones han sido ampliamente corroboradas por otros (2,6). Además de estas alteraciones funcionales, la capacidad de proliferación de las células tronco medulares es limitada, y predispone al neonato a depleción de neutrófilos en situaciones de mayor demanda (4,5). La comparación de estas alteraciones con los efectos descritos del GM-CSF nos permite visualizar las ventajas del tratamiento de la septicemia bacteriana severa acompañada de neutropenia con este medicamento.

Roberts, en 1991 (51) reportó los efectos del tratamiento de un prematuro con G-CSF, pero el uso fue como un preventivo de septicemia en un paciente con múltiples episodios de sepsis, con buena respuesta, sin embargo no fueron evaluados los efectos del medicamento durante la infección activa. Se ha sugerido que la utilización de G-CSF puede ser preferible al GM-CSF en la septicemia neonatal, debido a los menores efectos adversos del primero (52), sin embargo, nuestro estudio no apoya tal selección basada en la presencia de efectos secundarios, ya que los observados son similares a los reportados para el G-CSF (53).

Los efectos secundarios descritos son, en su mayoría, leves, como dolor óseo, letargia, fiebre, eritema facial y discreto aumento de peso el día de la administración. Es descrito un síndrome de la "primera dosis" en los 15-30 minutos siguientes a la administración del GM-CSF, consistente en hipotensión e hipoxemia (39); se ha hipotetizado que el origen de esta disminución sea la marginación inicial de los neutrófilos a nivel de los capilares pulmonares relacionada con el decremento inicial en las cifras de neutrófilos circulantes.

En nuestros pacientes no encontramos disminución de la presión arterial de oxígeno (PaO₂) ni fiebre. Otros efectos colaterales son difíciles de evaluar en el recién nacido pero creemos que la administración en el breve lapso de tres días contribuyó a los escasos efectos adversos observados. No podemos descartar, con nuestros hallazgos preliminares, que los pacientes que curseu concomitantemente con DBP pueden presentar efectos adversos potenciales graves tras la administración de GM-CSF, la activación inespecífica de los PMN en pacientes con daño pulmonar preestablecido, pudiera incrementar el

daño tisular y resultar en un mayor daño de consecuencias impredecibles. Son necesarios más estudios para evaluar los posibles efectos del GM-CSF en pacientes con patologías caracterizadas por inflamación local importante.

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio clínico sobre los efectos del GM-CSF en el tratamiento de la septicemia neonatal severa, en neonatos neutropénicos. La respuesta clínica satisfactoria, la disminución significativa en la mortalidad y los escasos efectos adversos observados, justifican la evaluación del tratamiento de la septicemia neonatal con GM-CSF en un número mayor de pacientes neutropénicos en protocolos controlados doble ciego, para situar este manejo en su lugar definitivo dentro del esquema de tratamiento y evaluar objetivamente la utilidad del medicamento a futuro. Esperamos que al completar este estudio podamos arrojar más luz sobre los posibles beneficios del uso del GM-CSF en el tratamiento de los pacientes con septicemia.

Cuadro I

Criterios hematológicos para septicemia neonatal	
Criterio	Puntuación*
Leucocitosis > 30,000 en < 72 h.	1
Leucocitosis > 15,000 en > 72 h.	1
Leucopenia < 5,000	2
Neutropenia < 1,500	2
Bandas totales > 600	1
Relación bandas/neutrófilos > 0.20	2
Relación inmaduros/maduros > 0.15	2
Granulaciones tóxicas y/o vacuolas en polimorfonucleares	1
Proteína C-reactiva > 0.9 mg/dL	1
Sedimentación globular > 15 mm/h.	1
Fibrinógeno < 150 mg/dL	1
Plaquetas < 100,000	1
Hemocultivo con desarrollo	5
* Puntuación \geq 9 = septicemia	

Rodwell RL, Leslie AL, Tudehoe DI. *Early Diagnosis of Neonatal Sepsis Using a Hematologic Scoring System.* J Pediatr 1988; 112:761-7.

Tabla 1. Distribución por Sexo

Paciente	Grupo Control	Grupo GM-CSF
1	M	M
2	F	M
3	M	M
4	M	M
5	M	F
6	F	F
7	F	M
8	F	F
9	M	M
10	F	F
11	F	M
12	M	F
13	F	F
14	F	F
15		M
16		F
17		M
18		M

Tabla 2a. Características generales

	Peso (g)		Edad Gestacional (Semanas)		Evolución		Edad al Ingreso (Días)	
	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF
1	1200	1075	32	28	Muerto	Vivo	14	18
2	1650	925	34	28	Vivo	Vivo	18	16
3	1050	2650	30	37	Muerto	Vivo	6	10
4	1850	3400	34	40	Vivo	Vivo	3	14
5	1900	1060	35	30	Muerto	Vivo	17	14
6	2300	1800	37	33	Muerto	Vivo	14	5
7	1100	2070	29	34	Vivo	Muerto	16	5
8	2350	1950	35	34	Vivo	Vivo	5	3
9	3100	1080	40	31	Vivo	Muerto	19	15
10	1700	860	32	27	Vivo	Vivo	36	14
11	1350	3200	32	40	Muerto	Vivo	4	2
12	1600	3000	32	40	Muerto	Vivo	12	17
13	1000	1020	28	32	Vivo	Vivo	12	25
14	1875	1730	33	34	Muerto	Vivo	8	19
15		1600		32		Vivo		18
16		1550		32		Vivo		26
17		2050		36		Vivo		10
18		1100		31		Vivo		6

Tabla 2b. Características generales

		Control	GM-CSF
Peso	(g)	1716 ± 580	1784 ± 815
Edad Gestacional	(Semanas)	33.0714 ± 3.149	33.2778 ± 4.056
Edad de Ingreso	(Días)*	13.14 ± 8.184	13.16 ± 6.857
Sexo (n)	Masculino	6	10
	Femenino	8	8
Sobrevidas / Muertes (n)	Vivos	7	16
	Muertos	7	2

* Valores expresados como Media ± D.S.

Tabla 3. Valores de Leucocitos en Gpo. Control y Gpo. GM-CSF

	Basal		24 hrs.		48 hrs.		72 hrs.	
	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF
1	2.80	1.35	2.50	2.30	1.60	5.65	1.20	16.20
2	2.30	0.98	3.60	1.20	2.20	8.50	4.90	13.40
3	1.55	2.54	2.40	2.30	1.35	6.70	1.10	8.10
4	4.70	4.26	3.50	4.60	2.80	9.15	6.50	23.20
5	3.65	1.25	1.20	1.56	1.60	5.80	1.85	11.20
6	1.50	4.70	1.00	3.85	0.85	3.60	1.00	6.90
7	1.10	3.20	2.30	4.10	2.40	6.80	3.65	14.70
8	3.85	3.60	2.65	3.00	3.60	10.25	3.50	22.00
9	4.90	2.45	4.10	1.98	4.90	5.60	5.80	7.60
10	4.00	1.60	2.10	2.30	1.55	7.45	3.98	13.50
11	3.10	3.90	1.85	4.25	1.10	12.50	3.20	11.00
12	2.50	4.10	0.65	4.00	0.85	11.40	1.20	16.10
13	2.10	2.50	3.20	1.85	3.60	5.00	6.80	9.30
14	4.65	2.40	1.90	2.65	1.85	9.10	9.00	12.50
15		3.65		3.89		6.10		12.40
16		3.30		3.60		16.25		13.00
17		2.10		2.50		9.80		14.50
18		1.60		1.80		20.30		16.00

Los valores son expresados en U.I.

Basal $t = 0.75$ y $p = 0.45$ (NS)

1er día (24 hrs.) $t = 1.30$ y $p = 0.19$ (NS)

2° día (48 hrs.) U-Mann-Whitney 250.5 y $p < 0.001$

3er día (72 hrs.) U-Mann-Whitney 249.0 y $p < 0.001$

NS = No significativo

Tabla 4. Valores de Polimorfonucleares en Gpo. Control y Gpo. GM-CSF

	Basal		24 hrs.		48 hrs.		72 hrs.	
	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF	Control	GM-CSF
1	2.38	0.76	1.88	1.56	1.07	4.86	0.96	12.96
2	1.50	0.73	0.68	1.02	2.09	7.06	4.41	10.85
3	1.40	1.24	0.86	2.00	0.43	5.23	0.72	5.59
4	1.18	0.77	1.96	3.40	1.51	6.22	4.23	16.70
5	1.24	0.81	0.47	1.45	1.34	5.04	0.27	9.41
6	0.17	1.83	0.12	2.66	0.05	3.20	0.03	6.21
7	0.58	2.50	1.79	2.79	1.25	5.51	1.90	5.59
8	1.39	0.72	1.64	2.85	2.30	9.53	0.88	12.98
9	0.98	1.27	1.39	1.26	4.46	4.37	2.67	3.34
10	1.88	1.18	1.89	1.75	0.53	6.41	1.31	8.91
11	0.47	0.39	1.54	3.53	1.02	8.25	0.64	8.36
12	1.58	1.89	0.05	3.64	0.43	6.61	0.18	11.59
13	0.80	1.08	2.27	1.41	2.31	3.55	3.40	6.05
14	0.61	1.46	0.82	1.99	0.70	6.92	4.95	4.38
15		2.19		2.65		3.90		9.92
16		1.72		2.92		13.65		6.63
17		0.74		2.15		6.08		11.89
18		0.77		1.31		16.24		13.92

Los valores son expresados en U.I.

Basal $t = 0.34$ y $p = 0.73$ (NS)

1er día (24 hrs.) U-Mann-Whitney 200 y $p < 0.005$

2° día (48 hrs.) U-Mann-Whitney 248 y $p < 0.001$

3er día (72 hrs.) U-Mann-Whitney 246 y $p < 0.001$

NS = No significativo

Tabla 5. Leucocitos y Polimorfonucleares

		n	\bar{X}	DE
Leucocitos	Control	14	2.847	1.436
	GM-CSF	18	6.982	2.628
PMN	Control	14	1.419	1.034
	GM-CSF	18	4.198	2.067

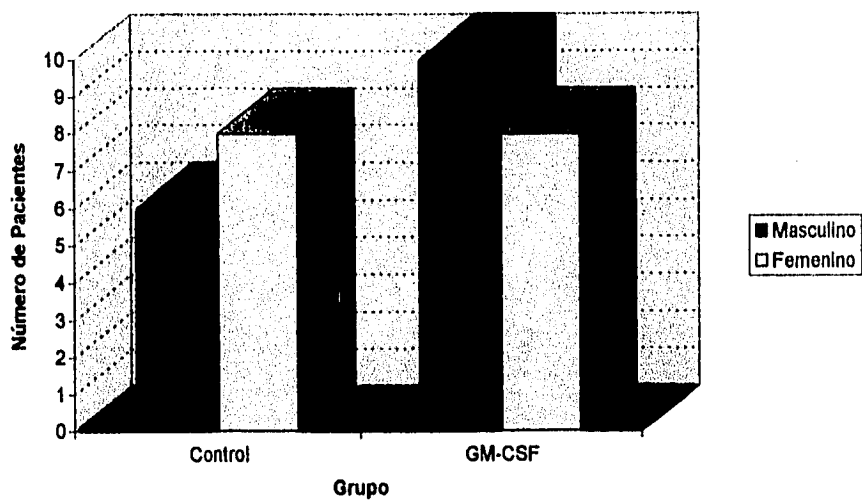
Tabla 6. Leucocitos Totales

Días	Control $\bar{X} \pm DE$	GM-CSF $\bar{X} \pm DE$
Diagnóstico (Basal)	3.050 \pm 1.221	2.748 \pm 1.105
1	2.353 \pm 0.976	2.873 \pm 1.061
2	2.153 \pm 1.138	8.886 \pm 4.080
3	3.833 \pm 2.412	13.422 \pm 4.269

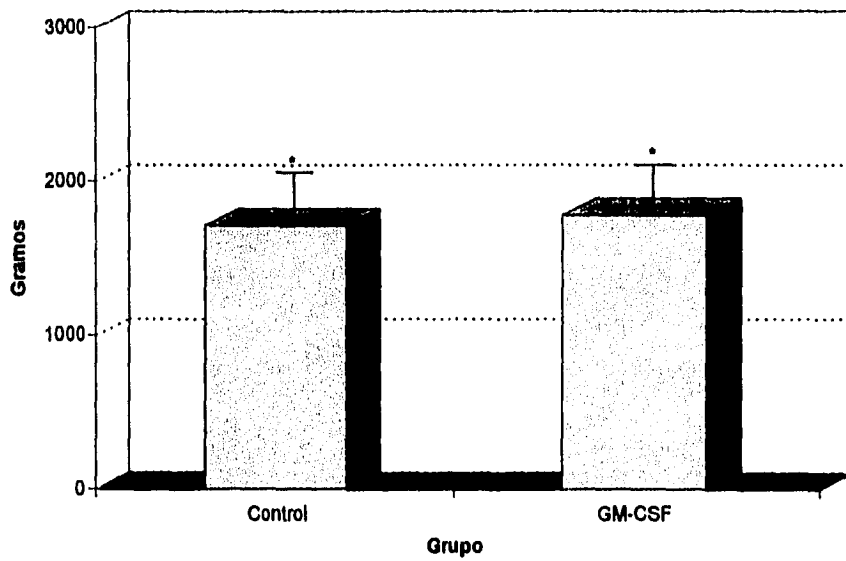
Tabla 7. PMN Totales

Días	Control $\bar{X} \pm DE$	GM-CSF $\bar{X} \pm DE$
Diagnóstico (Basal)	1.151 \pm 0.698	1.223 \pm 0.573
1	1.240 \pm 0.701	2.240 \pm 0.812
2	1.392 \pm 1.092	6.811 \pm 3.285
3	1.885 \pm 1.645	9.182 \pm 3.599

Gráfica 1. Distribución por Sexo

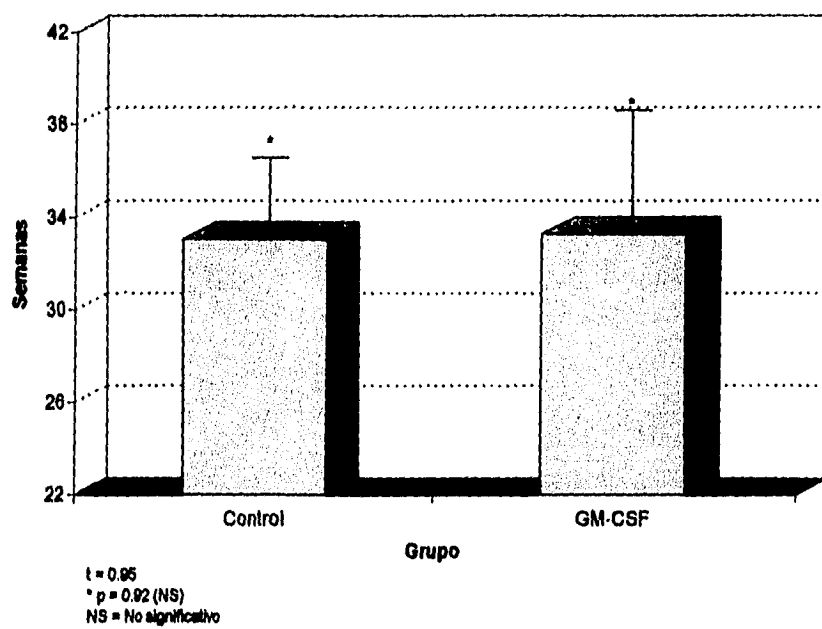


Gráfica 2. Peso al Nacimiento

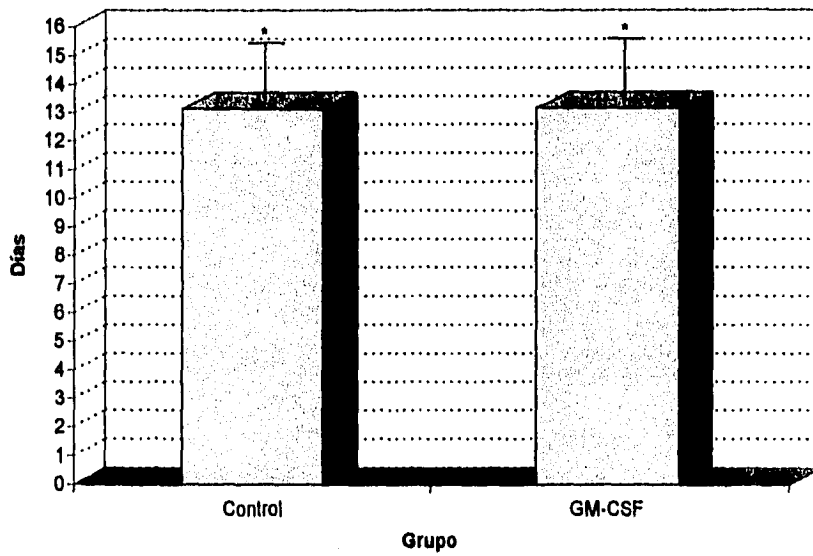


t = 0.26
* p = 0.79 (NS)
NS = No significativo

Gráfica 3. Edad Gestacional

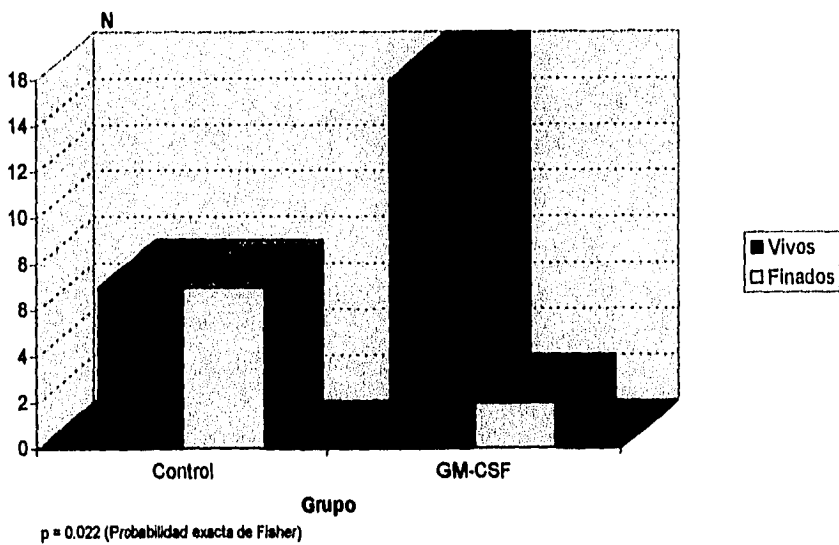


Gráfica 4. Edad de Ingreso

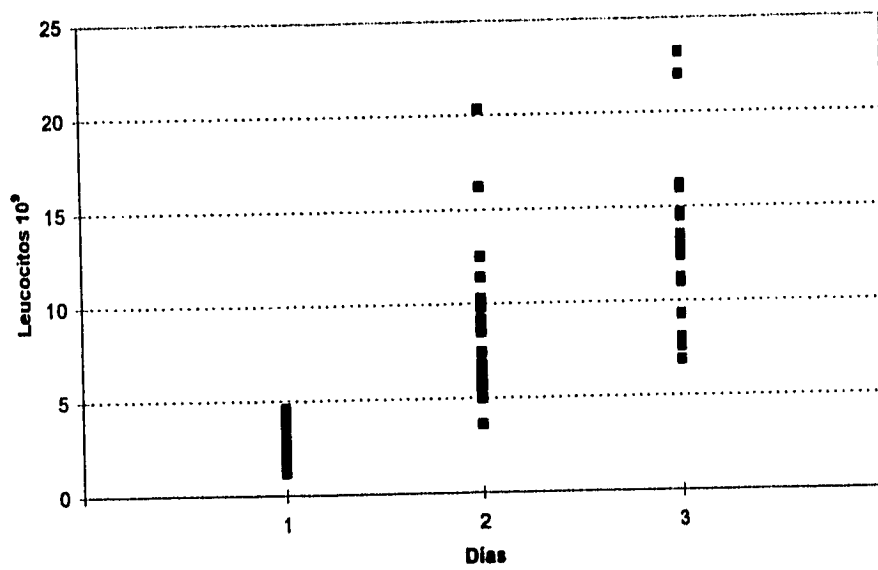


t = 0.01
* p = 0.99 (NS)
NS = No significativo

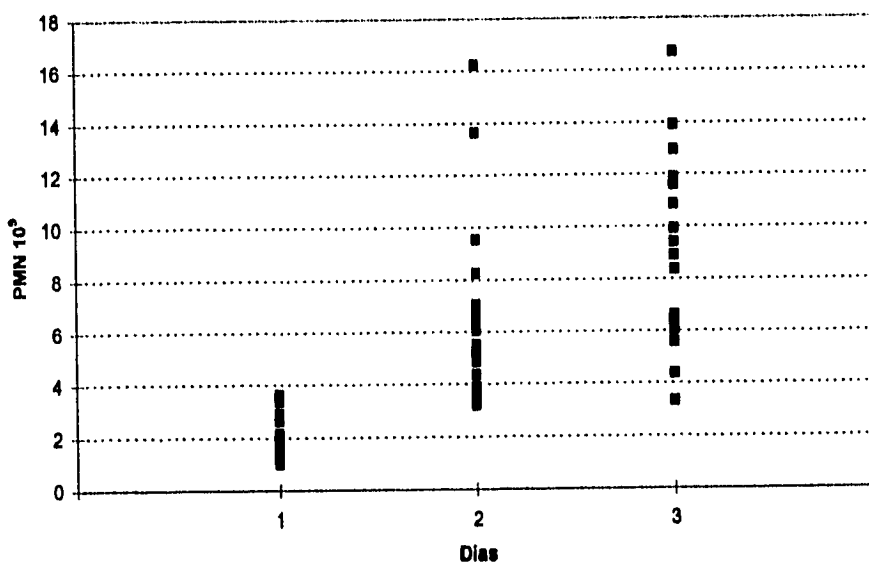
Gráfica 5. Mortalidad vs. Sobrevida



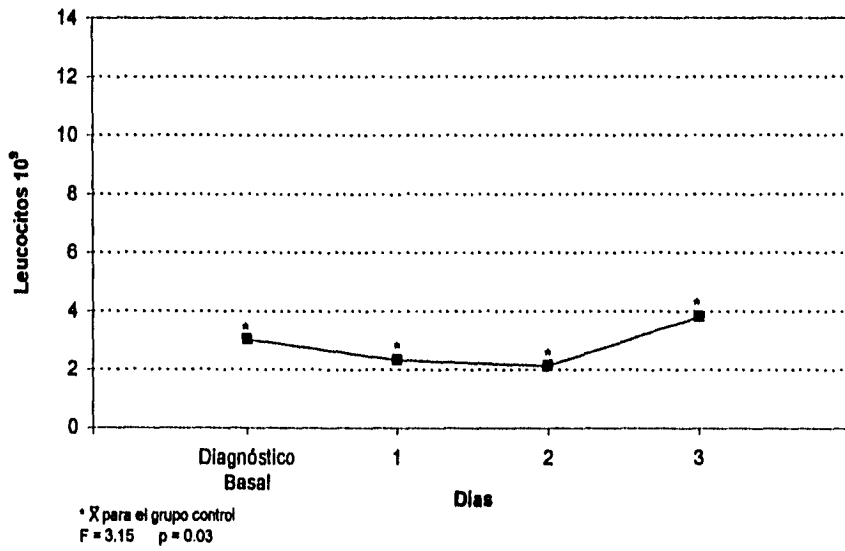
Gráfica 6. Número de Leucocitos



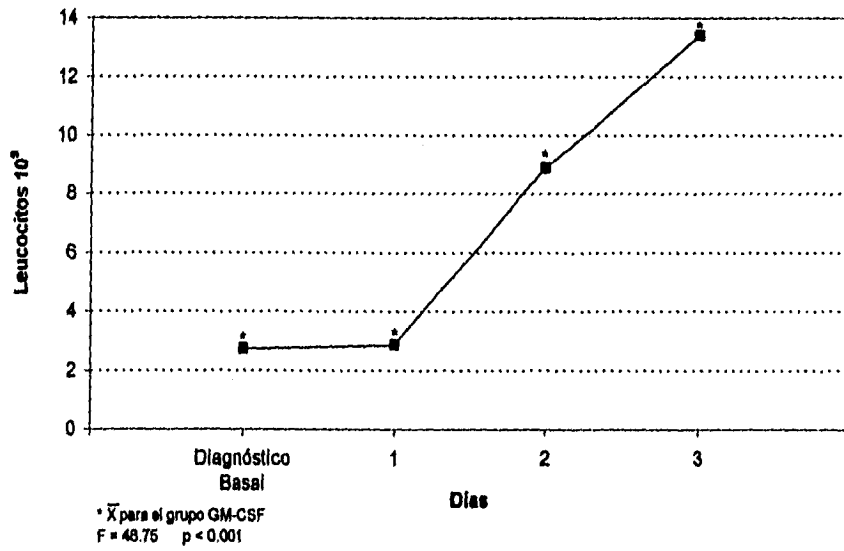
Gráfica 7. Número de Polimorfonucleares



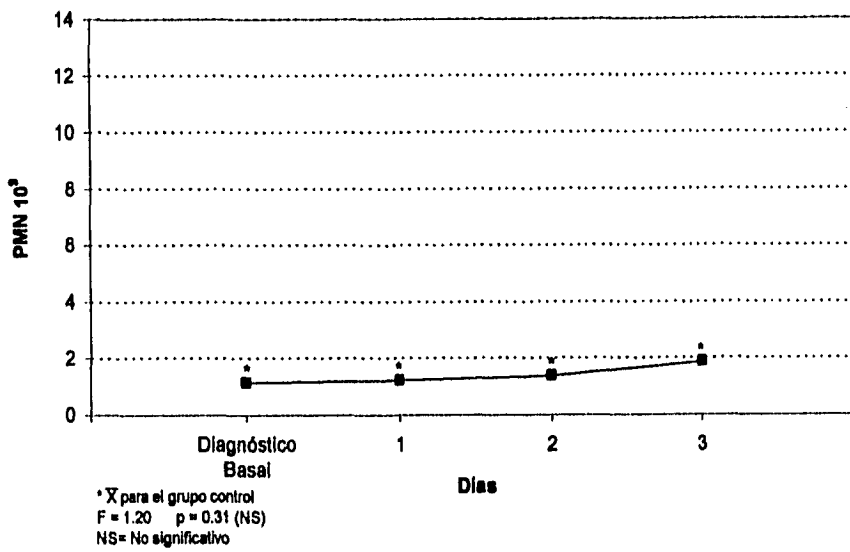
Gráfica 8a. Leucocitos grupo Control



Gráfica 8b. Leucocitos grupo GM-CSF

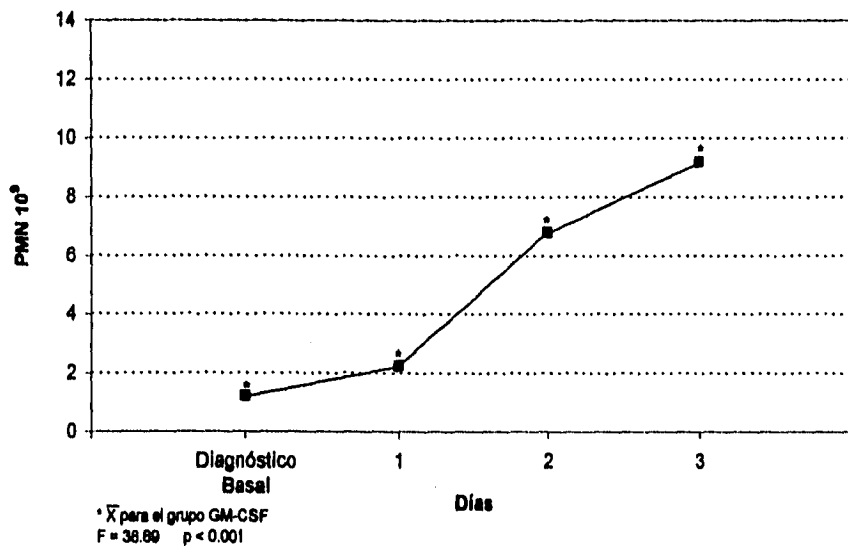


Gráfica 9a. Polimorfonucleares grupo Control



ESTA TESIS NO DEBE
SER REPRODUCIDA SIN
EL CONSENTIMIENTO DE

Gráfica 9b. Polimorfonucleares grupo GM-CSF



BIBLIOGRAFIA

1.- Klein JO, Moray SM. Bacterial sepsis and meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editors. Infectious diseases of the fetus and the newborn. Philadelphia: Saunders, 1990: 601-56.

2.- Cairo MS. Neonatal neutrophil host defense. Prospects for immunologic enhancement during neonatal sepsis. AJDC 1989; 143: 40-6.

3.- Christensen RD, Hill HR, Rothstein G. Granulocytic stem cell (CFUc) proliferation in experimental group B streptococcal sepsis. Pediatr Res 1983;17:278-80.

4.- Christensen RD, Rothstein G. Exhaustion of mature marrow neutrophils in neonates with sepsis. J Pediatr 1980; 96: 316-8.

5.- Doré M, Slauson DO, Neilsen NR. Membrane NADPH oxidase activity and cell size in bovine neonatal and adult neutrophils. Pediatr Res 1990; 28: 327-31.

6.- Hill HR. Biochemical, structural and functional abnormalities of polymorphonuclear leukocytes in the neonate. Pediatr Res 1987; 22: 375-82.

7.- Christensen RD, Rothstein G, Anstall HB, Bybee B. Granulocyte transfusions in neonates with bacterial infection, neutropenia and depletion of mature marrow neutrophils. Pediatrics 1982; 70: 1-6.

8.- Laurenti F, Ferro R, Isacchi G. Polymorphonuclear leukocyte transfusion for the treatment of sepsis in the newborn infant. J Pediatr 1981; 98:118-23.

9.- Cairo MS, Worcester C, Rucker R. Role of circulating complement and polymorphonuclear leukocyte transfusion in treatment and outcome in critically ill neonates with sepsis. J Pediatr 1987; 110 : 935-41.

10.- Haque KN, Zaidi MH, Bahakim H. IgM- enriched intravenous immunoglobulin therapy in neonatal sepsis. AJDC 1988; 142: 1293-1296.

11.- Kliegman RM, Clapp DW, Berger M. Targeted immunoglobulin therapy for the prevention of neonatal infections. *Rev Infect Dis* 1990; 12 Suppl 4: 443 - 55.

12.- Cairo MS. Review of G-CSF and GM-CSF. Effects on neonatal neutrophils kinetics. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989; 11: 238-44.

13.- Groopman JE, Molina JM, Scadden DT. Hematopoietic growth factors. Biology and clinical applications. *N Eng J Med* 1989; 321: 1449- 59.

14.- Morstyn G, Burgess AW. Hemopoietic growth factors: a review. *Cancer Res* 1988; 48 Suppl 1: 624-37.

15.- Clark SC, Kamen R. The human hematopoietic colony-stimulating factors. *Science* 1987; 236: 1229-37.

16.- Metcalf D. The granulocyte- macrophage colony-stimulating factors. *Science* 1985; 229: 16-22.

17.- Cantrell MA, Anderson D, Cerretti DP, Price V, McKereghan K, Tushinski RJ, et al. Cloning, sequence, and expression of a human granulocyte/ macrophage colony stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 6250-4.

18.- Furman WL, Crist WM. Potential uses of recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor in children. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1991; 13: 388-99.

19.- Cairo MS, van de Ven C, Toy C, Suen Y, Mauss D, Sender L. GM-CSF primes and modulates neonatal PMN motility : up- regulation of C3bi (Mo1) expression with alteration in PMN adherence and aggregation. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1991; 13: 249-57.

20.- Khwaja A, Carver JE, Linch DC. Interaction of granulocyte-macrophage colony-stimulation factor (CSF), granulocyte CSF and tumor necrosis factor in the priming of the neutrophil respiratory burst. *Blood* 1992; 79: 745-53.

21.- Cairo MS, van de Ven C, Toy C, Y, Mauss D, Sender L. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor primes neonatal granulocytes for enhanced oxidative metabolism and chemotaxis. *Pediatr Res* 1989; 26: 395-9.

22.- McNiece I, Andrews R, Stewart M, Clark S, Boone T, Quesenberry P. Action of Interleukin3, G-CSF, and GM-CSF on highly enriched human hematopoietic progenitor cells: synergistic interaction of GM-CSF plus G-CSF. *Blodd* 1989; 74: 110-4.

23.- Smith PD, Lamerson CL, Wong HL, Wahl LM, Wahl SM. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates human monocyte accessory cell function. *J Immunol* 1990; 144: 3829-34.

24.- Metcalf D. The colony-stimulating factors. Discovery, development, and clinical applications. *Cancer* 1990;65:2185-95 .

25.- Tanaka T, Okamura S, Okada K, Suga A, Shimono N, Ohhara N, et al. Protective effect of recombinant murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor against *Pseudomonas aeruginosa* infection in leukocytopenic mice. *Infec Immun* 1989; 57: 1792-99.

26.- Frenck RW, Sarman G, Harper TE, Buescher ES, The ability of recombinant murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to protect neonatal rats from septic death due to *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1990; 162: 109-14.

27.- Wheeler JG, Givner LB. Therapeutic use of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in neonatal rats with type III group B Streptococcal sepsis. *J Infect Dis* 1992; 165: 933-41.

28.- Matsumoto M, Tamura M, Matsubara S, Matsuno T, Ono M, Yokota T. Mechanism of protective effect of recombinant human granulocyte stimulating factor (r-G-CSF) on *Pseudomonas* infection. *Microbiol Immunol* 1991; 35: 461- 74.

29.- Grant SM, Heel RC. Recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rGM-CSF). A review of its pharmacological properties and

prospective role in the management of myelosuppression. *Drugs* 1992; 43: 516-60.

30.- Rodwell RL, Leslie AL, Tudehoe DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr* 1988; 112: 761-7.

31.- Philip AGS, Hewitt JR. Early diagnosis of neonatal sepsis. *Pediatrics* 1980; 65: 1036-41.

32.- Manroe BL, Weinberg, Rosenfeld CR, Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. *J Pediatr* 1979; 95: 89-98.

33.- Gregory J, Hey E. Blood neutrophil response to bacterial infection in the first month of life. *Arch Dis Child* 1972; 47: 747-53.

34.- Akenzua GI, Hui YT, Milner R, Zipursky A. Neutrophil and band counts in the diagnosis of neonatal infections. *Pediatrics* 1974; 54: 38-42.

35.- Christensen RD, Bradley PP, Rothstein G. The leukocyte left shift in clinical and experimental neonatal sepsis. *J Pediatr* 1981; 98:101-5.

36.- Manroe BL, Rosenfeld CR, Weinberg AG, Browne R. The differential leukocyte count in the assessment and outcome of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *J Pediatr* 1977; 91: 632-7.

37.- Liu CH, Lehan C, Speer ME, Fernbach DJ, Rudolph AJ. Degenerative changes in neutrophils: an indicator of bacterial infection. *Pediatrics* 1984; 74: 823-7.

38.- Burgess AW, Begley CG, Johnson GR. Purification and properties of bacterially synthesized human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1987; 69: 43-51.

39.- Cebon J, Lieschke GJ, Bury GW, Morstyn G. The dissociation of GM-CSF efficacy from toxicity according to route of administration: a pharmacodynamic study. *Br J Hematol* 1992; 80: 144-50.

40.- Vadhan-Raj S, Jeha SS, Buescher S, LeMaistre A, Yee G, Lloreta J, et al . Stimulation of myelopoiesis in a patient with congenital neutropenia : biologyc and nature of response to recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1990; 75: 858-64.

41.- Welte K, Zeidler C, Reiter A, Müller W, Odenwald E, Souza L, Riehm H. Differential effects of granulocyte-macrophage colony-stimulation factor and granulocyte colony-stimulating factor in children with severe congenital neutropenia. *Blood* 1990; 75: 1056-63.

42.- Gabilove JL. Introduction and overview of hematopoietic growth factors. *Semin Hematol* 1989; 26 suppl 2: 1- 4.

43.- Mostyng G, Lieschke GJ, Sheridan W, Layton J, Cebon J, Fox RM. clinical experience with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Semin Hematol* 1989; 26 suppl 2: 9-13.

44.- Glaspy JA, Golde DW. Clinical applications of the myeloid growth factors. *Semin Hematol* 1989; 26 suppl 2: 14-7.

45.- Smith PD, Janoff EN, Wahl SM. Granulocyte-Macrophage colony-stimulating factor augmentation of human monocyte effector and accesory cell functions. In: van Furth R, editor. Hemopoietic growth factors and mononuclear phagocytes. Basel: Karger, 1993: 79-89.

46.- Cannistra SA, Groshek P, Garlick R, Miller J, Griffin JD. Regulation of surface expression of the granulocytes- macrophage colony-stimulating factor receptor in normal human myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 93-7.

47.- de Bant ESJM, Martens A, van Raan J, Samson G, Fetter WPF, Okken A, et al. Tumor necrosis factor - α , interleukin- 1β , and interleukin -6 plasma level in neonatal sepsis. *Pediatr Res* 1993; 33: 380-3.

48.- Anderson DC, Pickering LK, Feigin RD. Leukocyte function in normal and infected neonates. *J Pediatr* 1974; 85: 420-5.

- 49.- Shigeoka AO, Santos JI, Hill HR. Functional analysis of neutrophil granulocytes from healthy, infected, and stressed neonates. *J Pediatr* 1979; 95: 454-60.
- 50.- Martinez- Limon AJ, Mancilla- Ramirez J, Santos- Preciado JI. Sepsis neonatal. Experiencia 1980-1985 del Hospital Infantil de México. *Bol Med Hops Infant Mex.* 1988; 46: 77-8.
- 51.- Roberts RL, Szelc CM, Scates SM, Boyd MT, Soderstrom KM, Davis MW, et al. Neutropenia in an extremely premature infant treated with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *AJDC* 1991; 145: 808-12.
- 52.- Bailie KEM, Irvine AE, Bridgers JM, McClure BG. Granulocyte and granulocyte- macrophage colony-stimulating factors in cord and maternal serum at delivery. *Pediatr Res* 1994; 35 : 164-168.
- 53.- Asano S. Human granulocyte colony-stimulating factor: its basic aspects and clinical applications. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1991; 13: 400-13.
- 54.- Gillan ER, Christensen RD, Suen Y, Ellis R van de Ven C. Cairo MS. A randomized, placebo-controlled trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration in newborn infants with presumed sepsis: significant induction of peripheral and bone marrow neutrophilia. *Blood* 1994; 84: 1427-33.
- 55.- Bailie KEM, Irvine AE, Bridgers JM, McClure BG. Granulocyte and granulocyte- macrophage colony-stimulating factors in cord and maternal serum at delivery. *Pediatr Res* 1994; 35 : 164-8.
- 56.- Makhoulf RA, Doron MW, Bose CL, Price WA, Stiles AD. Administration of granulocyte colony-stimulating factor to neutropenic low birth weight infants of mothers with preeclampsia. *J Pediatr* 1995; 126: 454-6.
- 57.- Zelen M. Play the winner rule and the controlled clinical trial. *J Am Stat Assoc* 1969; 64: 131-46.

58.- Wei LJ, Durham S. The randomized play the winner rule in medical trials. *Jam Stat Assoc* 1978; 73: 840-3.