



11237 8
24.
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL CENTRO MEDICO NACIONAL
LA RAZA

RS
**FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS
GRANULOCITO MACROFAGO EN EL
TRATAMIENTO DE LA SEPTICEMIA BACTERIANA
NEONATAL GRAVE EN PACIENTES
NEUTROPENICOS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA
P R E S E N T A :
DRA. ROSA ELENA ANDRADE BAEZA

ASESOR DE TESIS: DR. JOSE MARTE ESTRADA FLORES.



MEXICO, D. F.

[Firma]
ENERO 1997

**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.

INVESTIGADORES.

DR. JOSÉ VICENTE ESTRADA FLORES.

Neonatólogo, adscrito al servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza.

DRA. ROSA ELENA ANDRADE BAEZA.

Médico residente de 3er. Año de Pediatría Médica del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza.

Dr. Julio César Ballesteros del Olmo.

Neonatólogo, adscrito al Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza.

Dr. Eduardo Álvarez Vázquez.

Jefe de Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza.

**FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS
GRANULOCITO-MACROFAGO
EN EL TRATAMIENTO DE LA SEPTICEMIA
BACTERIANA NEONATAL GRAVE EN
PACIENTES NEUTROPENICOS**

A MIS PADRES:

JOSÉ MANUEL Y ELENA.

DOR TODO EL AMOR, CARIÑO Y APOYO

INCONDICIONAL QUE SIEMPRE ME

HAN PROPORCIONADO

A MIS HERMANOS:

SUSANA, MANUEL, RENÉ Y VÍCTOR.

QUIENES SIEMPRE HAN TENIDO PALABRAS

DE ALIENTO EN LOS MOMENTOS

DIFÍCILES.

AL DR. CARLOS ANTONIO VARGAS VALERIO.

POR SU AMOR Y CARIÑO QUE SIEMPRE ME HA DEMOSTRADO.

A MI ASESOR DE TESIS:

DR. JOSÉ VICENTE ESTRADA FLORES.

POR SU INCONDICIONAL E INVALUABLE AYUDA

PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

AL DR. EDUARDO ALVAREZ VÁZQUEZ.

JEFE DEL SERVICIO DE NEONATOLOGÍA

DEL HOSPITAL GENERAL CENTRO MÉDICO LA RAZA

POR LAS FACILIDADES PROPORCIONADAS

PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE ESTUDIO.

MI MÁS SINCERO AGRADECIMIENTO A:

ISRAEL ERICK PACHECO CABALLERO

DOR SU EXCELENTE AYUDA EN LA

REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

I N D I C E

INDICE	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	11
RESULTADOS	14
TABLAS	17
FIGURAS	21
DISCUSIÓN	31
BIBLIOGRAFIA	34
ANEXOS	40

INTRODUCCION.

La septicemia neonatal es 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 y 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 o pretérmino (1-10 por 1000 nacidos vivos) (2); contribuyendo la septicemia neonatal la quinta causa de ingreso al Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza y la 10ª causa de mortalidad en dicho servicio. De aproximadamente 650 ingresos anuales a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza, 60 tienen como diagnóstico principal de ingreso el de septicemia neonatal y, alrededor de 60 casos más se presentan entre los pacientes que ingresan por otras patologías. De este total de 120 pacientes, se observa que 1 de cada 10 pacientes, cursa con leucopenia y neutropenia como consecuencia de la infección bacteriana grave y la mayoría de ellos muestran falta de respuesta satisfactoria al tratamiento médico convencional con antibióticos y exanguinotransfusiones seriadas, sin que exista hasta el momento un tratamiento adecuado

para este tipo de pacientes.

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).

Las deficiencias cualitativas y cuantitativas de los neutrófilos son variadas. Christensen y Rothstein han demostrado sólo un 10-20% de unidades formadoras de colonias granulocito-macrófago (CFU-GM) en ratas recién nacidas comparadas al animal adulto y, a pesar de este escaso número, su tasa de proliferación está al 75-80% de sus niveles máximos, por lo que la producción de granulocitos en la médula ósea no es capaz de aumentar, significativamente, en el recién nacido en condiciones fisiológicas, y menos aún si existe infección bacteriana grave con gran consumo de neutrófilos (2,4). Además, la reserva medular de neutrófilos (polimorfonucleares, bandas y metamielocitos) es de sólo el 25% comparada con la del adulto, lo que predispone a depleción medular en recién nacidos con septicemia grave y es un factor pronóstico de importancia en la sobrevida (5).

Durante la septicemia neonatal, aún el número adecuado de polimorfonucleares puede ser insuficiente debido a que su capacidad de función está alterada. Se ha demostrado, in vitro e in vivo, múltiples anomalías en los polimorfonucleares (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) (2,6,7).

Recientemente 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 de crecimiento actúan como reguladores de la hematopoyesis y han sido llamados "factores estimulantes de colonias" (colony-stimulating factors-CSFs). La presencia de CSF no solo es necesaria para la proliferación y liberación de las células progenitoras, sino también afecta a la función de las células maduras. El CSF puede ser, de hecho, el principal regulador del aumento en la producción celular durante estados de aumento en las demandas (8). Al menos 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: CSF granulocito (G-CSF), CSF monocito (M-CSF) y la eritropoyetina, actúan sobre las células progenitoras maduras y, generalmente sólo se requieren durante las últimas fases del desarrollo celular específico. Influencian la proliferación, liberación y diferenciación de las células progenitoras finales y afectan la función y supervivencia de las células maduras en sangre periférica (8).

El primer CSF en ser codificado y clonado fue el GM-CSF en 1985. El cDNA para el GM-CSF contiene un único cuadro de lectura de 432 nucleótidos que codifican un péptido que consiste en 144 aminoácidos. Esta proteína precursora escindida en su amino terminal produciendo una proteína madura de 127 aminoácidos. El gene que codifica el receptor humano de GM-CSF también ha sido clonado y localizado en el cromosoma X (9).

Diferentes patrones de glucosilación producen una glucoproteína nativa de peso molecular variable, entre 14 y 35 kD. Esta glucosilación es más extensa en proteínas obtenida a partir de levaduras o líneas celulares de mamíferos, e inexistente en la obtenida a partir de *E. coli*. Los efectos precisos de la modificación extensa en los carbohidratos sobre la función del GM-CSF son desconocidos, sin embargo, la habilidad del factor recombinante humano GM-CSF (rHuGM-CSF) para estimular la proliferación celular, aparentemente disminuye conforme aumenta el grado de glucosilación (9). Se piensa que la cantidad de carbohidratos afectan los procesos de secreción, aumentan la sobrevivencia de la molécula en la circulación y su unión a las proteínas plasmáticas para su transporte (9).

El GM-CSF ejerce su actividad biológica uniéndose a un receptor específico de la superficie celular que se expresa ampliamente en la célula hematopoyética. Los monocitos, neutrófilos y eosinófilos tienen, normalmente, sólo algunos cientos de estos receptores por célula. La baja ocupación de los receptores parece ser adecuada para lograr la máxima

actividad biológica. Se han identificado dos clases diferentes de receptores para el GM-CSF. Una clase de receptores tiene alta afinidad de unión (K_D 30 pmol) y el otro tiene baja afinidad de unión (K_D 1 nmol). 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 lipoxigenasa, así como aumento 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 horas. 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 afecta también a los precursores eritroides y megacariocíticos, pero estos efectos solo se ven con concentraciones mucho mayores y en presencia de otras citocinas (9).

El GM-CSF afecta la cinética de los precursores mieloides en la médula ósea, causando entrada rápida de las células en el ciclo celular y disminuyendo el tiempo del 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 medular

más corto y produce compromiso de las células progenitoras hacia la línea granulocítica. 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 muy bajas de GM-CSF y ocurre con cada administración. Estudios con leucocitos marcados con radionúclidos en pacientes tratados con GM-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 leucocitos 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 inmaduras). Este patrón bifásico de respuesta leucocitaria se piensa sea resultado de la demarginación inicial y liberación de neutrófilos de las reservas medulares, seguido por un aumento en la producción medular (9).

El GM-CSF tiene efectos directos sobre neutrófilos maduros y puede jugar un papel principal, junto con otros CSFs en la regulación de la respuesta inmune. 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, trofoblastos,

fibroblastos, ciertos tipos de células tumorales. El rHuGM-CSF produce una amplia gama de efectos estimulantes sobre la función de los neutrófilos y, quizá, juegue un papel importante en la activación de la fagocitosis durante la respuesta inmune. El GM-CSF también aumenta la quimiotaxis hacia los sitios de lesión y puede producir inmovilización de las células en los sitios de inflamación con exposiciones prolongadas. La citotoxicidad de los monocitos y eosinófilos tanto para microorganismos como para células tumorales aumenta con la exposición a GM-CSF (9-12).

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, síndromes 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 la inmunodeficiencia humana (9,13-17); aunque sus usos potenciales son múltiples, particularmente los relacionados de infecciones graves por *Leishmania* y *Candida albicans* con este factor con resultados alentadores (16).

Las posibilidades terapéuticas de la septicemia bacteriana en el recién nacido con GM-CSF son amplias. Los efectos del factor sobre la función de los neutrófilos *in vitro* han sido bien estudiadas (8,10-12); y estudios experimentales en animales neonatos han demostrado el efecto protector del GM-CSF en infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*,

Staphylococcus aureus y estreptococo del grupo B tipo III (18-20) en humanos GM-CSF ha sido utilizado ampliamente en el tratamiento de neutropenia de cualquier origen, sobre todo asociada a infecciones crónicas en pacientes hematólogicos u oncológicos (9,17). En recién nacidos el GM-CSF se ha utilizado en el tratamiento de la neutropenia congénita y como coadyuvante de la eritropoyetina en la anemia del prematuro, en dosis de 10-15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, por períodos de 2-3 semanas con resultados variables, pero nulos efectos secundarios (21-22).

Los animales que recibieron las dosis más altas desarrollaron poliserositis, con afección de pericardio, pleura y peritonio. Aunque hay que destacar que la dosis de 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ es 30 veces la propuesta para uso clínico. Se observaron algunos cambios con la dosis de 90 y 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ como disminución en la albúmina sérica, incremento en las globulinas, hipertrigliceridemia y disminución en el colesterol en las hembras Sprague-Dawley que recibieron la dosis más alta. No se encontraron alteraciones en el funcionamiento renal (21-22).

En la médula ósea de los monos *cynomolgus* estudiados, se detectó hiperplasia granulocítica y eritroide con las dosis más elevadas de 90 y 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en los días 16 y 17, estos animales también tuvieron una mayor proporción de neutrófilos y eosinófilos inmaduros en médula ósea. En los estudios de necropsia se encontró discreto aumento del tamaño del vaso con hallazgos de hematopoyesis extramedular, la cual fue evidente también hígado y riñones. Se observó discreto aumento en los nódulos linfáticos en los animales

tratados con las dosis más elevadas (22).

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 haya respondido al manejo médico convencional, evaluando los efectos de este medicamento sobre el número de leucocitos totales y mortalidad en esta entidad nosológica.

MATERIAL Y METODOS.

DOBLACIÓN:

Nosotros estudiamos recién nacidos a término y pretérmino con diagnóstico de septicemia neonatal, que ingresaron al Servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza, durante el lapso de tiempo comprendido desde el primero de febrero de 1995 al 31 de octubre de 1996, con diagnóstico de sepsis neonatal bacteriana con leucopenia y neutropenia; quienes han tenido falla de respuesta, al tratamiento convencional.

Incluimos a todo recién nacido ambos sexos entre 26 y 42 semanas de gestación menores, de 30 días de edad posnatal para los recién nacidos a término y pretérmino y menores de 37 semanas de edad posconcepcional para los de pretérmino con diagnóstico de septicemia neonatal en base a la presencia obligada de:

A.- DATOS CLÍNICOS DE INFECCIÓN: rechazo a la alimentación, mal estado general, fiebre irritabilidad, hiporreactividad, distermias, apneas, crisis convulsivas, datos de cheque, acidosis persistente.

B.- DATOS PARACLÍNICOS: leucopenia $< 5,000/\text{mm}^3$, neutropenia $< 1,500/\text{mm}^3$, relación bandas/neutrófilos > 0.2 , relación inmaduros/maduros > 0.15 ; VSG. $> 15\text{mm/h.}$, proteína C-reactiva $> 0.9\text{mg/dl}$, calificados de acuerdo a la tabla

incluida en el anexo 3, considerándose diagnóstica de septicemia una calificación $> =$ igual 6 puntos (23,27).

Así como falta de respuesta al tratamiento médico convencional. Considerando como falta de respuesta al tratamiento médico convencional la persistencia en los índices hematológicos, de infección, con una calificación $> =$ a 6, hemocultivo con persistencia en el crecimiento bacteriano después de 72 horas de haberse iniciado. Es estudio fue aprobado por el comité de investigación en humanos del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza. Fue necesaria la firma de alguno de los padres de la hija de conocimiento informado para la inclusión a este estudio.

METODOLOGIA:

Una vez ingresados los pacientes y cumpliendo todos los criterios de inclusión, se utilizó como método estadístico aleatorio el de "Juego con el Ganador" (25,26) en la que la asignación de los pacientes a una modalidad terapéutica o a otra dependió del resultado final de los pacientes previamente enrolados, designándose dos grupos. Al grupo control quienes no recibieron tratamiento con GM-CSF (Grupo A), se les tomó biometría Hemática completa (1ml de sangre extraída por punción directa) a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la aplicación de 20 ml de solución glucosada al 5% en infusión diaria durante 3 días. Al grupo experimental se les administró GM-CSF (grupo B) (melgramestil-LEUCOMAX, Sandoz-Plough clave IMSS 5429) A dosis de 10 mcg/kg/diluido en 20 ml de solución glucosada al 5% durante 20 minutos en infusión

diaria durante 3 días consecutivos. Dosis elegida para lograr un máximo efecto sobre la respuesta leucocitaria, con mínimos efectos secundarios posibles, considerando que el medicamento no se había utilizado previamente en recién nacidos con septicemia aguda grave. Posteriormente se tomó biometría hemática completa (1ml de sangre extraída por punción directa) a las 24, 48 y 72 horas después de la administración del medicamento.

A todas las muestras incluyendo las tomadas al grupo control se anotó el número total de leucocitos y la cuenta diferencial de los diferentes tipos de leucocitos (linfocitos, segmentados, monocitos, eosinófilos, basófilos, formas en banda y metamielocitos). Se anotó el número de fallecimientos dentro de los 10 días siguientes al diagnóstico de septicemia, para poder ser atribuidos a la septicemia exclusivamente.

Todos los datos se anotaron en la hoja de registro (ANEXO 1) para su posterior análisis.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

El análisis estadístico se realizó mediante tablas, gráficas, medidas de tendencia central y de dispersión para la estadística descriptiva. El análisis inferencial se efectuó mediante la prueba de análisis de varianza (one-way ANOVA) para las variables escalares y la probabilidad exacta de Fisher para las variables categóricas. Se consideraron significativas, diferencias con una p menor o igual 0.05.

RESULTADOS.

Del 1° de febrero de 1995 al 31 de octubre de 1996 se ingresaron un total de 85 pacientes neutropélicos con diagnóstico de septicemia en el servicio de Cuidados Intensivos Neonatales del servicio de Neonatología del Hospital General Centro Médico Nacional La Raza. De ellos se excluyeron 5; tres debido a la realización de exanguineotransfusión antes de su aleatorización y dos debido a fallecimiento en las 24 horas después de su ingreso. De los 80 pacientes restantes 34 fueron asignados al grupo A (control) y 46 al grupo B (tratados con GM-CSF) (fig. 1).

Del grupo A, 17 pacientes fueron del sexo femenino (50%) y 17 fueron del sexo masculino (50%). 28 pacientes (82.35%) de los 34 fueron pretérmino y 6 (17.65%) de término, con una edad gestacional promedio de 33 ± 3.2 semanas, el peso corporal promedio de 1175 ± 662 gramos y la edad de ingreso al estudio fue de 12.7 ± 7.3 días. El grupo B formado por 24 pacientes (52.17%) del sexo masculino y 22 (47.83%) del sexo femenino. 39 pacientes (84.79%) fueron pretérmino y 7 (15.21%) de término. La edad gestacional media de 33 ± 3.5 semanas de gestación con un peso corporal promedio de 1736 ± 650 gr. la edad al ingreso al estudio 11.5 ± 6.5 días. No habiendo diferencia significativas en estos parámetros entre el grupo A y B (tabla 1 y fig. 2,3).

No se observaron diferencias entre el número total de leucocitos (3169 ± 1231 en el grupo A vs 3045 ± 1213 en el grupo B; $p = 0.62$) ni en los PMN's ($1297 \pm$

661 en el grupo A vs 1156 ± 470 en el grupo B; $p = 0.39$) entre ambos grupos al momento de inclusión al estudio.

La comparación en el número de leucocitos totales y PMN's a las 24, 48 y 72 horas entre ambos grupos mostró diferencias significativas (tabla 2 y fig. 4,5). La prueba T. de students dentro de ANOVA mostró diferencias significativas en las diferentes muestras tomadas durante el periodo de estudio, nosotros mostramos estadísticamente diferencias significativas en la cuenta total de leucocitos en el grupo B entre las 24 y 48 horas ($4.44 \times 10^9/L \pm 2280$ vs $8.80 \times 10^9/L \pm 4304$, $P < 0.001$) y entre las 48 y 72 horas ($8.80 \times 10^9/L \pm 4304$ vs $12.495 \times 10^9/L \pm 5347$, $P < 0.001$) y en la cuenta de PMN's en el grupo B también también hubo diferencias significativas entre las 24 y 48 horas ($2.92 \times 10^9/L \pm 1530$ vs $6.72 \times 10^9/L \pm 3681$, $P < 0.001$) y entre las 48 y 72 horas ($6.72 \times 10^9/L \pm 3681$ vs $9.55 \times 10^9/L \pm 4778$, $P < 0.001$).

El análisis de varianza para mediciones repetidas mostró diferencias significativas en el número de leucocitos totales y PMN's en ambos grupos pero estas diferencias fueron mucho más marcadas en el grupo B.

En el grupo A con diferencia significativa en la cuenta total de leucocitos ($F = 74.58$; $p < 0.01$), así como en PMN's ($F = 51.46$; $p < 0.01$). En el grupo B con diferencias altamente significativas en la cuenta total de leucocitos ($F = 224.62$; $p < 0.001$), así como en PMN's ($F = 172.93$; $p < 0.001$).

Para esclarecer el motivo de estos hallazgos, analizamos por separado, la tendencia en el número de leucocitos totales por separado, la tendencia en el número de leucocitos totales y PMN's en ambos grupos en relación a los sobrevivientes y fallecidos, encontrando que tanto leucocitos totales como los PMN's aumentaron significativamente en los sobrevivientes de ambos grupos pero no ocurrió así en los fallecidos; de ellos en el grupo tratado con GM-CSF se observó estabilización en el número con un aumento discreto no significativo tanto en los leucocitos como en los PMN's, mientras que en el grupo control se observó una disminución gradual del número de estas células sugestivo de depleción severa de la médula ósea (tabla 3, fig. 7-10).

El porcentaje de sobrevivientes fue del 53% en el grupo A (18 de 34 pacientes) y 89% en el grupo B (41 de 46 pacientes) con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.001$). De los 5 pacientes fallecidos en el grupo tratado con GM-CSF, uno falleció a consecuencia de Candidiasis sistémica, uno con septicemia por *Staphylococcus aureus*, uno con septicemia por *Klebsiella pneumoniae* y dos con infección sistémica por *Staphylococcus epidermidis*. De los 16 fallecidos en el grupo control, solo se tuvo aislamiento positivo en 10. *Staphylococcus epidermidis* en 4, *Staphylococcus aureus* en 3 y *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en 1 caso cada uno, respectivamente (tabla 4).

No se observaron efectos adversos, los exámenes de laboratorio para evaluar el funcionamiento hepático y renal en los pacientes no mostraron alteraciones durante el período de administración del medicamento no se observaron alteraciones electrolíticas.

TABLA 1.- CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS

TABLA 1.- Características generales de los pacientes estudiados		
Características	Grupo A* GM-CSF (n = 34)	Grupo B* Control (n = 46)
Edad gestacional (sem)	33.2 ± 3.2	33.5 ± 3.5
Peso al nacimiento (g)	1775 ± 662	1736 ± 650
Edad al ingreso (días)	12.7 ± 7.3	11.5 ± 6.5
Sexo (n)		
Femenino	17	22
Masculino	17	24

* p = no significativa para todas las variables mostradas.

TABLA 2.- NÚMERO DE LEUCOCITOS TOTALES Y PMN'S.

Tabla 2.- Número de leucocitos totales y PMN's.			
Parámetro	Grupo A	Grupo B	p
<i>Inclusión</i>			
Leucocitos	3169 ± 1231	3045 ± 1213	ns
PMN's	1297 ± 661	1156 ± 470	ns
<i>24 horas</i>			
Leucocitos	3316 ± 1996	4442 ± 2280	< 0.01
PMN's	1704 ± 977	2928 ± 1530	< 0.01
<i>48 horas</i>			
Leucocitos	3738 ± 2518	8804 ± 4304	< 0.001
PMN's	2304 ± 1805	6725 ± 3681	< 0.001
<i>72 horas</i>			
Leucocitos	5310 ± 4120	12495 ± 5347	< 0.001
PMN's	3184 ± 2930	9553 ± 4778	< 0.001
ns = no significativa.			
Los valores se expresan como media ± desviación estándar.			

TABLA 3.- NÚMERO DE LEUCOCITOS Y PMN'S DE ACUERDO AL PRONOSTICO FINAL.

Tabla 3.- Número de leucocitos y PMN's de acuerdo al pronóstico final.				
Parámetro	Grupo A		Grupo B	
	<i>Vivos</i>	<i>Muertos</i>	<i>Vivos</i>	<i>Muertos</i>
Inclusión				
Leucocitos	3306 ± 1348	3020 ± 1101	2968 ± 1186	3410 ± 1232
PMN's	1345 ± 740	1253 ± 572	1143 ± 400	1466 ± 662
24 horas				
Leucocitos	3417 ± 1563	3215 ± 2442	4394 ± 2280	5131 ± 2690
PMN's	1902 ± 853	1483 ± 1084	3055 ± 1360	2596 ± 2048
48 horas				
Leucocitos	4994 ± 2449	2321 ± 1754	9737 ± 4124	5120 ± 1536
PMN's	3232 ± 1951	955 ± 671	7688 ± 3308	3175 ± 1724
72 horas				
Leucocitos	8026 ± 3510	2255 ± 2140	13936 ± 4368	6970 ± 4585
PMN's	5123 ± 2726	1084 ± 950	11051 ± 3709	3176 ± 1477

TABLA 4.- MICROORGANISMOS AISLADOS EN HEMOCULTIVOS.

TABLA 4.- Microorganismos aislados en hemocultivos				
Microorganismos	Grupo A		Grupo B	
	<i>Vivos</i>	<i>Muertos</i>	<i>Vivos</i>	<i>Muertos</i>
<i>Klebsiella</i> sp.	3	1	3	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	4	8	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3	3	1
<i>Escherichia coli</i>	0	1	2	0
<i>Candida albicans</i>	0	0	0	1
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0	1	0	0
	44.11%		45.65%	

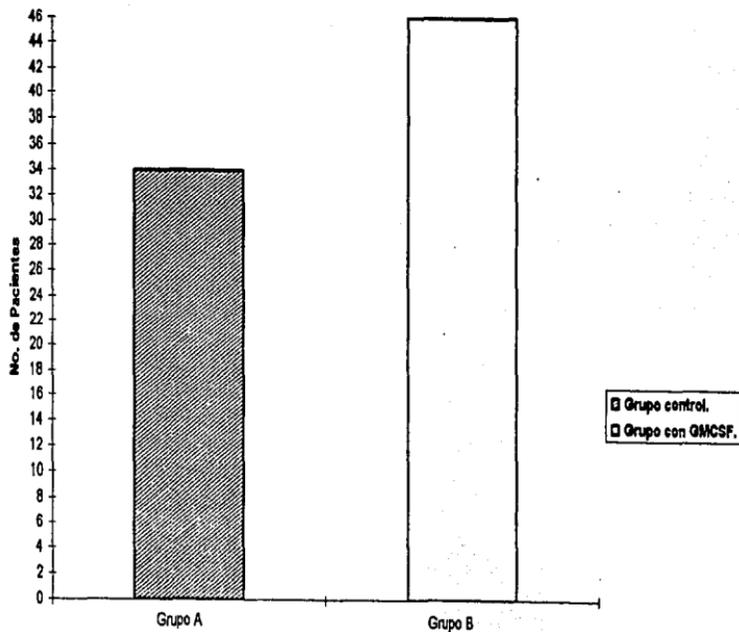


Fig. 1 Población estudiada

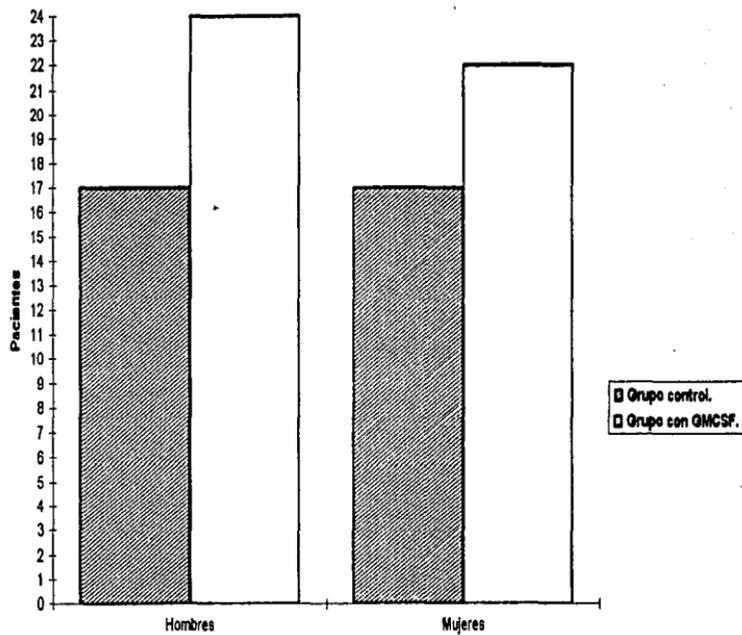


Fig. 2 Sexo

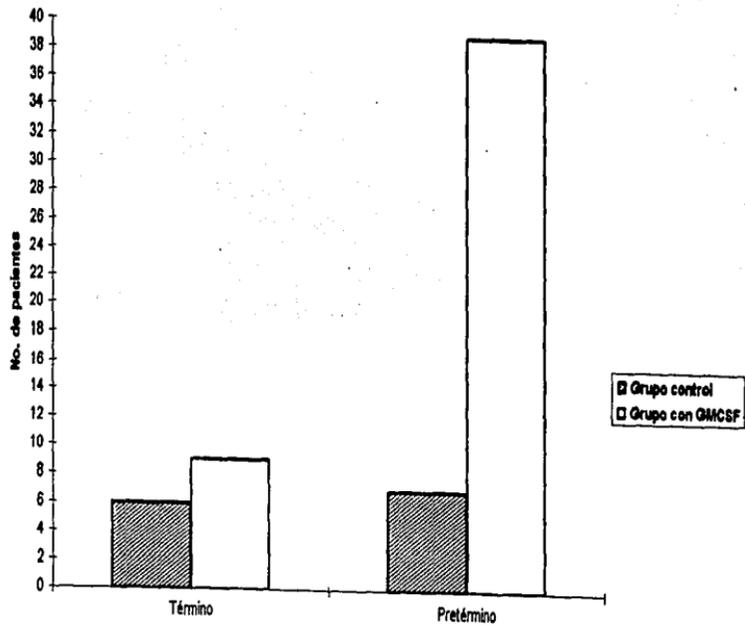


Fig. 3 Edad gestacional

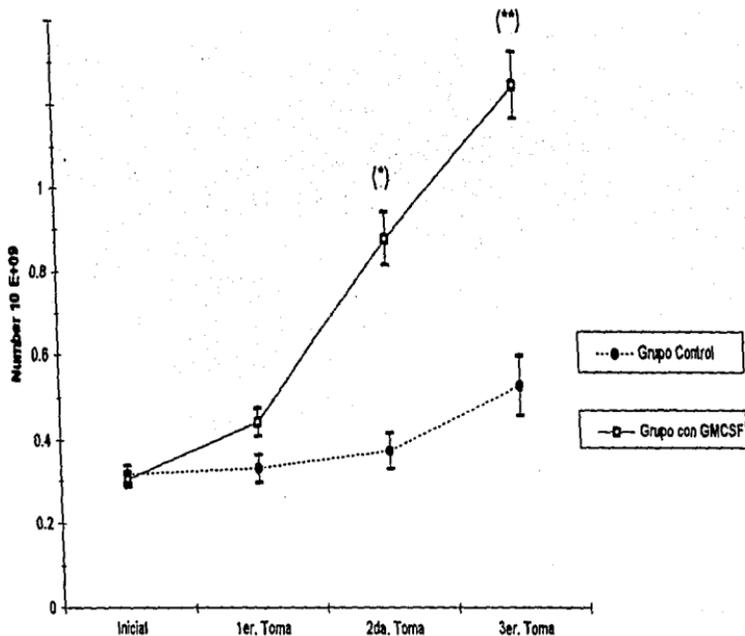


Fig. 4 Leucocitos

* indica diferencias significativas entre las 6 y 24 horas.

** indica diferencias significativas entre 24 y 48 horas.

Los datos muestran media ± error estándar.

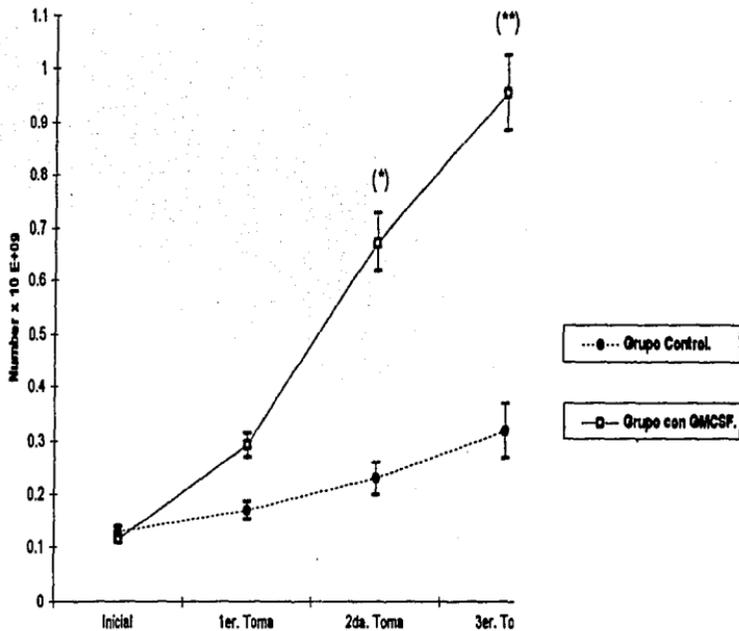


Fig. 6 Polimorfonucleares

* indica diferencias significativas entre las 6 y 24 horas.

** indica diferencias significativas entre 24 y 48 horas.

Los datos muestran la media \pm error estándar.

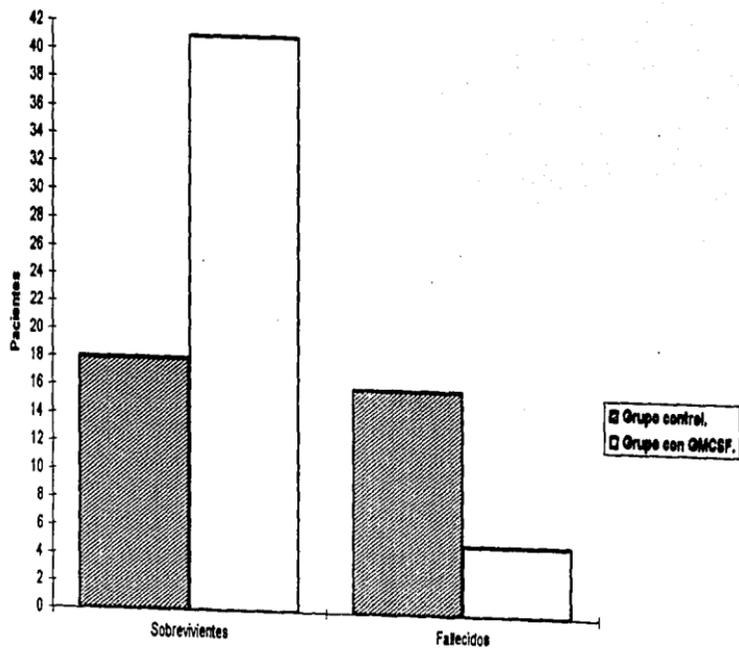


Fig. 6 Mortalidad

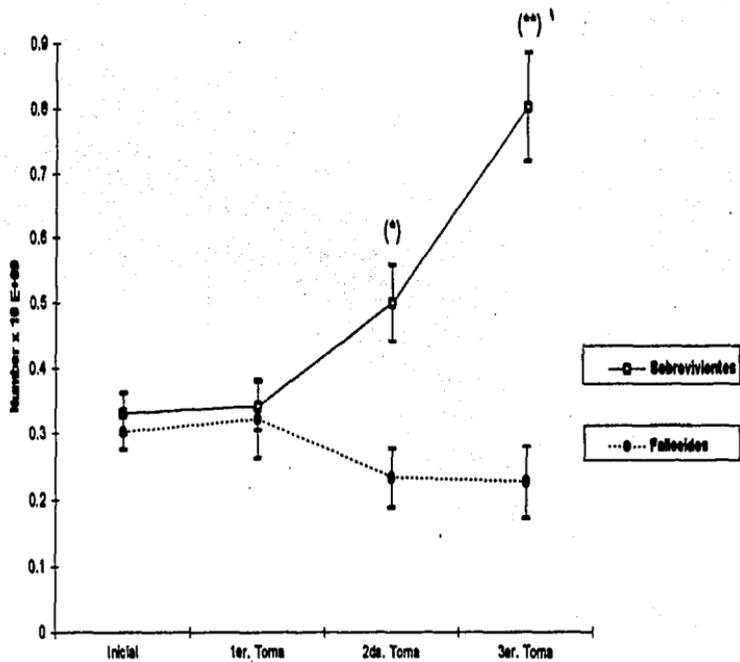


Fig. 7 Leucocitos en grupo A

* Indica diferencias significativas entre las 8 y 24 horas.

** Indica diferencias significativas entre 24 y 48 horas.

Los datos muestran la media ± error estándar.

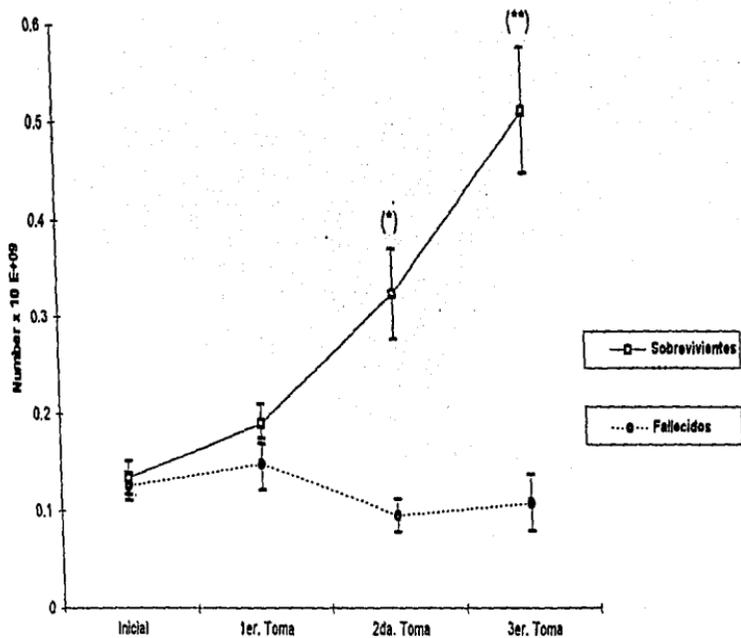


Fig. 8 Polimorfonucleares en grupo A

* Indica diferencias significativas entre las 6 y 24 horas.

** Indica diferencias significativas entre 24 y 48 horas.

Los datos muestran la media \pm error estándar.

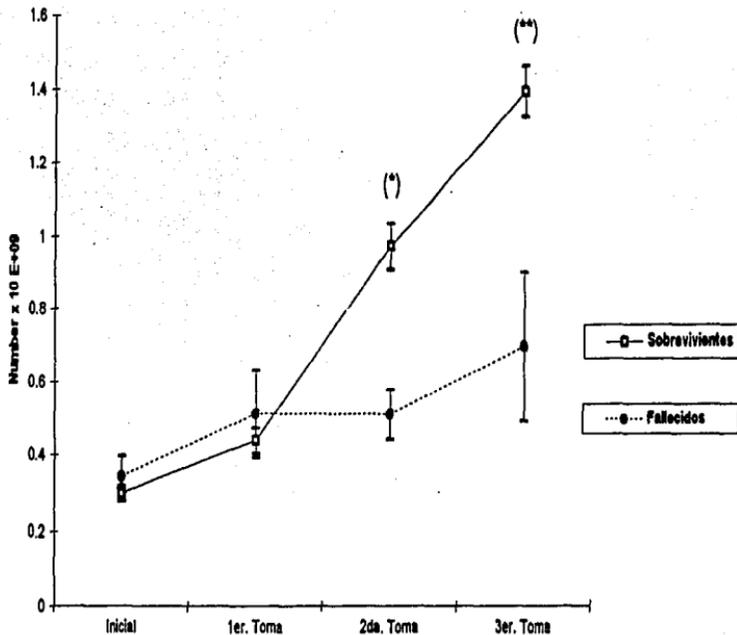


Fig. 8 Leucocitos en grupo B

* Indica diferencias significativas entre las 6 y 24 horas.
 ** Indica diferencias significativas entre 24 y 48 horas.
 Los datos muestran la media ± error estándar.

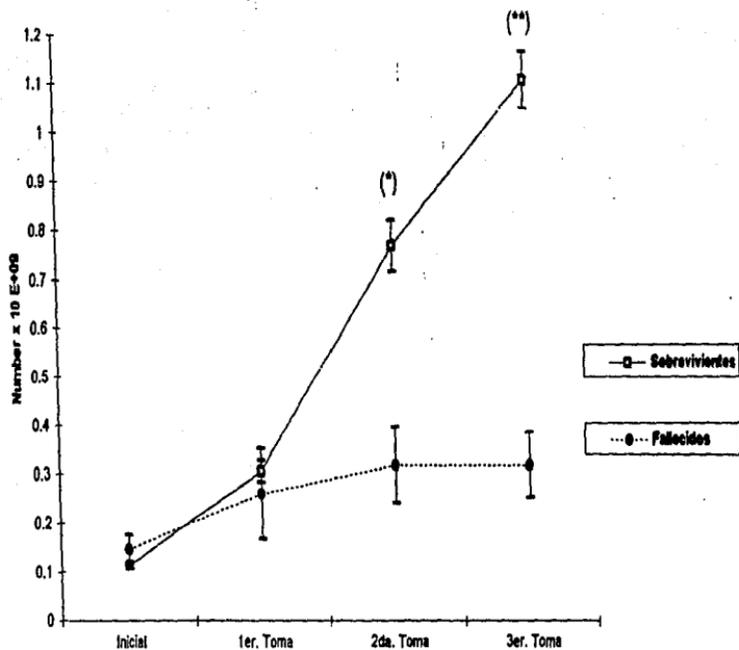


Fig. 10 Polimorfonucleares en grupo B

* indica diferencias significativas entre las 6 y 24 horas.

** indica diferencias significativas entre 24 y 48 horas.

Los datos muestran la media \pm error estándar.

DISCUSION.

El factor estimulante de colonias granulocito-macrófago ha sido utilizado en humanos para el manejo de anemia aplásica, síndrome de neutropenia congénita. Trasplante de médula ósea e infecciones por HIV, asociado a neutropenia (9) pero sus usos potenciales son múltiples en especial aquellos para el tratamiento de enfermedades infecciosas (9,13,16,17). Su utilización en el tratamiento de la infección asociada a inmunodepresión o supresión en el paciente inmunocomprometido adulto con enfermedades hematológicas y oncológicas, así como en pacientes con inmunodepresión asociada por virus VIH (13,16). Sin embargo la experiencia en el neonato se ha limitado a escasos reportes de su uso y tratamiento de los síndromes de neutropenia congénita con resultados variables (13,17,28).

El recién nacido parece ser el candidato ideal para la administración de este medicamento ya que sus deficiencias cuantitativas y cualitativas en los PMN's implican mayor riesgo de infecciones sistémicas por un gran número de microorganismos, por lo que sería conveniente incrementar la respuesta inmunitaria para asegurar una respuesta adecuada de estas células de la serie granulocítica en presencia de infección sistémica grave.

Cairo reporta un incremento en la cuenta de leucocitos a las 6, 24 y 48 horas, después de la administración del GM-CSF mediante inyección intraperitoneal en ratas (8) ya que se ha demostrado que el GM-CSF afecta a los precursores de los

granulocitos en la médula ósea disminuyendo el tiempo del ciclo celular así como el número de divisiones celulares (9).

Un estudio piloto previo en neonatos neutropénicos con septicemia bacteriana mostró los posibles beneficios de la utilización del GM-CSF en estos pacientes con caso nula presencia de efectos adversos si se vigila en forma adecuada la dosis y tiempo de administración (29). En general los efectos adversos del GM-CSF, han sido, fiebre, letargia, rubor facial, dolor óseo e incremento de peso en el día de la administración. Una primera dosis se ha descrito en los 15-30 minutos posteriores a la infusión del GM-CSF, consistiendo en hipotensión e hipoxemia (24).

Hasta el momento no existen otros reportes sobre la administración del GM-CSF en recién nacidos infectados, sin embargo hay de la administración del G-CSF en recién nacidos con episodios repetidos de infección (30). Roberts, en 1991 (31) reportó los efectos de granulocito-CSF (G-CSF) en un lactante prematuro con neutropenia persistente y múltiples episodios de sepsis con buena respuesta, pero en ninguno de los casos la administración de dicha citocina fue durante un episodio agudo de infección activa.

No hay estudios hasta ahora sobre las posibles ventajas de GM-CSF vs G-CSF o viceversa. En adultos se ha pensado la posibilidad de que tal G-CSF pueda ser preferible al GM-CSF por existir menos efectos adversos que con este último. Esto no ha sido corroborado por nosotros ya que en este estudio no se observaron efectos adversos ni clínicamente ni alteración en exámenes de laboratorio. Por otro lado la activación de la

serie monocito-macrófago, en particular a nivel pulmonar pudiera constituir un mecanismo de defensa importante en neonatos, principalmente prematuros, sometidos a ventilación mecánica y cuya puerta de entrada suele ser a nivel respiratorio (32,34).

Nosotros concluimos que el uso del GM-CSF en pacientes sépticos neutropénicos en esta etapa disminuye la mortalidad de manera significativa. Por lo que habría que considerar esta citocina dentro del tratamiento de la septicemia en conjunto del esquema antimicrobiano. Esto puede constituir un avance importante en el manejo del neonato neutropénico con septicemia en quien el riesgo de muerte aun es elevado.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Klein Jo, Moray SM. Bacterial sepsis and meningitis. In Remington JS, Klein JO. Infection diseases of the fetus and the newborn. 3^d. Edition. Philadelphia W.B. Saunders, 1990, Pp 601-56.
- 2.- Cairo MS. Neonatal neutrophil host defense. Prospects for immunologic enhancement during neonatal sepsis. *AJDC* 1989; 143: 40-6.
- 3.- Weisman LE, Stoll BJ, Kueser TJ, Rubio TT, Frank G, Heiman HS, et al. Intravenous immune globulin therapy for early-onset sepsis in premature neonates. *J Pediatr* 1992; 121: 434-43.
- 4.- Christensen RD, Hill HR, Rothstein G. Granulocytic stem cell (CFU_c) proliferation in experimental group B streptococcal sepsis. *Pediatr Res* 1983; 17: 278-80.
- 5.- Christensen RD, Rothstein G. Exhaustion of mature marrow neutrophils in neonates with sepsis. *J Pediatr* 1980; 96: 316-8.
- 6.- Hill HR. Biochemical, structural and functional abnormalities of polymorphonuclear leukocytes in the neonate. *Pediatr Res* 1987; 22: 375-82.
- 7.- 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.

8.- Cairo MS. Review of G-CSF and GM-CSF. Effects on neonatal neutrophils kinetics. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1989; 11: 283-44.

9.- 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.

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

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

12.- Cairo MS, van de Ven, Toy C, 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.

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

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

15.- Gabrielove JL. Introduction and overview of hematopoietic growth factors. *Semin Hematol* 1989; 26 (Suppl 2): 1-4.

16.- Morstyn G, Lieschke GJ, Sheridan W, Layton J, Cobon J, Fox RM. Clinical experience with recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Semin Hematol* 1989; 26 (Suppl 2): 9-13.

17.- Gaspy JA, Golde DW. Clinical applications of the myeloid growth factor. *Semin Hematol* 1989; 26 (Suppl 2): 14-7.

18.- 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. *Infect Immun* 1989; 57: 1792-99.

19.- French 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.

- 20.- 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.
- 21.- 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.
- 22.- Sieff CA, Emerson SG, Donahue RE. RHuGM-CSF (Molgranostim): clinical and pharmacological review. *Science* 1985; 230: 1171-1191.
- 23.- Rodwell RL, Leslie AL, Tudehoe DI. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *J Pediatr* 1988; 112: 761-7.
- 24.- 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.
- 25.- Zelen M. Play the winner rule and the controlled clinical trial. *J Am Stat Assoc* 1969; 64: 131-46.
- 26.- Wei LJ, Durham S. The randomized play the winner rule in medical trials. *J Am Stat Assoc* 1978; 73: 840-3.

27.- Ballesteros OJ, Rodríguez IC, Morales M, García G, García RP. Cols. Indicadores de infección temprana en septicemia neonatal. *Rev Mex Pediatr* 1996; 63: 17-24.

28.- Asano S. Human granulocyte colony - stimulating factor it's basic aspects and clinical applications. *Am J. Pediatr HematolOncol* 1991; 13: 400-13.

29.- Estrada - Flores JV, Fernández - Celis. JM, Ballesteros - del Olmo JC. Granulocyte - macrophage colony - stimulating factor treatment o severe bacterial sepsis in neutropenic neonates. *Arch Med. Res*; 1996 (in press).

30.- Gillan ER, Christensen RD, Suen Y, Ellis R, Van Deven 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.

31.- Roberts. RL, Szele CM, Scates SM, Boya MT, Soderstrom KM, Davis MW, et al. Neutropenia in an extremely premature infant treated with recombination human granulocyte colony - stimulating factor. *AJDC* 1991; 145: 808-12.

32.- Goodwin SR, Graves SA, Haberkern CM. Aspiration in intubated premature infants. *Pediatrics* 1985; 75: 85-8.

33.- Browning DH, Graves SA. Incidence of aspiration with endotracheal tubes in children. *J Pediatr* 1983; 102: 582-4.

34.- Groneck P, Goetze-Speer B, Speer CP. Inflammatory bronchopulmonary response of preterm infants with microbial colonisation of the airways at birth. Arch Dis Child 1996; 74: F51-F55.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

ANEXO 1. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS.

NOMBRE:	CAMA:	
CÉDULA:	PESO AL NACER:	EDAD GESTACIONAL:
SEXO:		

DIAGNÓSTICOS AL MOMENTO DE INCLUSIÓN AL ESTUDIO:

- 1.- _____
 2.- _____
 3.- _____

MÉDULA ÓSEA INICIAL:

MÉDULA ÓSEA FINAL:

BIOMETRÍA HEMÁTICA:

- I LEUCOCITOS TOTALES :
- Linfocitos
 - Segmentados
 - Eosinófilos
 - Basófilos
 - Monocitos
 - En banda
 - Metamielocitos
- II LEUCOCITOS TOTALES :
- Linfocitos
 - Segmentados
 - Eosinófilos
 - Basófilos
 - Monocitos
 - En banda
 - Metamielocitos
- III LEUCOCITOS TOTALES :
- Linfocitos
 - Segmentados
 - Eosinófilos
 - Basófilos
 - Monocitos
 - En banda
 - Metamielocitos

DEFUNCIONES :

ANEXO 2. **CONSENTIMIENTO DE LA PERSONA
RESPONSABLE DEL PACIENTE.**

Doy mi autorización de que a mi hijo(a):

*Se le de el tratamiento con el factor estimulante de colonias granulocito-
macrófago para el tratamiento de septicemia neonatal.*

*Siendo previamente informado sobre los posibles beneficios y efectos
adversos que pudiera ocasionarle.*

ATENTAMENTE.

**ANEXO 3. TABLA DE CALIFICACION DE
CRITERIOS HEMATOLOGICOS
PARA DIAGNOSTICO DE SEPTICEMIA.**

TABLA 5. 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	1
Relación inmaduros/maduros > 0.15	1
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	2
* Puntuación > 6 = septicemia.	