



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

11219

3

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
DIRECCION DE ENSEÑANZA
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGIA E INMUNOLOGIA

EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS DE GRANULOCITOS Y MACROFAGOS (GM-CSF) Y DE INMUNOGLOBULINA G INTRAVENOSA (IgIV) EN RECIEN NACIDOS CON SEPSIS NEONATAL

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

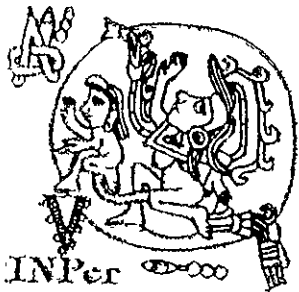


DIRECCION DE ENSEÑANZA

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN :
INFECTOLOGIA
PRESENTA :
JUAN FRANCISCO GALAN HERRERA

PROFESOR TITULAR:
DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA

DIRECTOR DE TESIS:
DR. EN C. JAVIER MANCILLA RAMIREZ



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D.F. 2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

MEXICO, D.F. 2002

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
DIRECCION DE ENSEÑANZA
DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGIA E INMUNOLOGIA

EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON FACTOR ESTIMULANTE DE
COLONIAS DE GRANULOCITOS-MACROFAGOS (GM-CSF) Y DE
INMUNOGLOBULINA G INTRAVENOSA (IgGIV) EN RECIEN NACIDOS CON
SEPSIS NEONATAL.

SE ADJUNTAN LAS FIRMAS DE APROBACION DE ESTE TRABAJO DE
INVESTIGACION COMO TESIS DE POSTGRADO EN INFECTOLOGIA


DR. RUBEN BOLAÑOS ANCONA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA DEL INSTITUTO NACIONAL DE
PERINATOLOGIA



DR. FEDERICO JAVIER ORTIZ IBARRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE INFECTOLOGIA



DR. JAVIER MANCILLA RAMIREZ
ASESOR DE TESIS


SECCION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M.

INDICE:

1. RESUMEN.....	3
2. INTRODUCCION.....	4
3. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS.....	5
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
5. METODOLOGIA	
Lugar y duración.....	10
Criterios de selección de pacientes.....	10
Diseño del estudio.....	10
Protocolo de tratamiento.....	10
Evaluación de laboratorio.....	11
Cuantificación de citocinas.....	11
Cálculo del tamaño de la muestra y análisis estadístico.....	11
6. RESULTADOS.....	12
7. CONCLUSIONES.....	13
8. DISCUSION.....	14
9. BIBLIOGRAFIA.....	15
10. ANEXO 1	
Texto declaratorio. Consentimiento informado.....	18
11. ANEXO 2	
Gráficas y cuadros.....	19

RESUMEN

Antecedentes

La mayor susceptibilidad del neonato a las infecciones graves esta condicionada por su menor capacidad de respuesta inflamatoria aguda y la falta de anticuerpos protectores de clase IgG. Los dos avances más sólidos en la terapia auxiliar de sepsis neonatal están representados por la inmunoglobulina intravenosa (IgIV) y los factores estimulantes de colonias.

Objetivo

Evaluar el efecto del uso simultáneo de IgIV y GM-CSF en recién nacidos con diagnóstico de sepsis neonatal sobre mediadores de la respuesta inflamatoria durante la infección, así como la respuesta clínica de desenlace.

Diseño y metodología

Ensayo clínico, doble ciego, aleatorizado, que incluyó recién nacidos de término y pretérmino con evidencia clínica de infección y/o hemocultivo positivo e inicio de antibióticos dentro de las primeras cuatro semanas de vida extrauterina, los cuales se asignaron a los siguientes grupos de tratamiento: 1) IgIV, 500 mg/kg/dosis única + rhGM-CSF, 5 µg/kg/día por 5 días (n = 12); 2) rhGM-CSF, 5µg/kg/día por 3 día (n = 6); 3) IgIV, 500 mg/kg/dosis única (n = 14); 4) albúmina, 500 mg/kg/dosis única (n = 8).

Se tomaron muestras sanguíneas para determinación de cuentas de leucocitos totales, neutrofilos totales, bandas totales y plaquetas; así como para IL-1 TNF α , IL-1Ra, TNF-sR1 e IL-6 antes del inicio de tratamiento, y a las 24 h, 72 h y 7 d. Se registraron las características clínicas de los pacientes, días de estancia intrahospitalaria y desenlace

Resultados

Se incluyeron 40 recién nacidos en el estudio, con edades gestacionales entre 35.5 semanas y 37.2 semanas y un peso que varió entre 2,300gr y 2,700g. Los microorganismos aislados más frecuentes fueron: *Staphylococcus epidermidis* (20%), *Staphylococcus aureus* (15%), y *Klebsiella pneumoniae* (10%). Los días de estancia intrahospitalaria, instalación de catéteres venosos central o umbilical, ventilación mecánica y nutrición parenteral total fueron factores de riesgo para la adquisición de infecciones en estos pacientes. Las manifestaciones clínicas encontradas fueron similares en los cuatro grupos. Los días de estancia intrahospitalaria registrados por grupo IgIV + GM-CSF (17), grupo IgIV (14), grupo GM-CSF (24), y grupo control (16 días) con una $p < 0.05$. No se registraron muertes durante el período de estudio en ninguno de los 4 grupos de tratamiento. En las primeras 72 horas la concentración de inhibidores permaneció alta en el grupo control y disminuyó notablemente a los 7 días de tratamiento. IL-1Ra y los receptores solubles aumentaron entre 100 y 1000 veces con respecto a la IL-1 β y a TNF α . El aumento más notable fue en el IL-sR1 en el grupo tratado con GM-CSF + IgIV con respecto al testigo ($p = 0.016$) y a los otros dos grupos ($p < 0.05$). Se observó un incremento notable en la cuenta total de leucocitos en los grupos que recibieron GM-CSF respecto a los que solo recibieron IgIV sola y albúmina.

Conclusiones

Los recién nacidos con mayores concentraciones de sR y menores de IL-6, IL-1 β y TNF α , tuvieron una evolución clínica mas favorable. El tratamiento de la sepsis neonatal con la combinación de IgIV y GM-CSF se asocia con un aumento de IL-1Ra y de los receptores solubles de IL-1 y TNF α , ambas citocinas anti-inflamatorias durante la sepsis.

INTRODUCCION:

Las infecciones sistémicas por bacterias y hongos durante el primer mes de vida extrauterina continúan siendo una de las principales causas de muerte perinatal en todo el mundo. ⁽¹⁾

En los países más desarrollados la letalidad por sepsis neonatal ha disminuido hasta establecerse en un promedio de 15% y la tasa de morbilidad sigue estando entre 8 y 12 por cada 1,000 recién nacidos vivos (RN). En México y otras naciones en vías de desarrollo, la morbilidad se reporta en una tasa de 15 a 30 por cada 1,000 RN y la mortalidad sigue estando entre 25 y 30%. ⁽³⁾

La sepsis es la culminación de una serie de eventos iniciados por microorganismos (y sus productos proteicos o lipídicos) mediados por el propio sistema inmunológico del hospedero. Se ha demostrado que las citocinas, una familia de péptidos de señales celulares con propiedades pro-inflamatorias [factor de necrosis tumoral (TNF) y las interleucinas (IL) 1, 2, 6, 8, 12 y IL-18] y anti-inflamatorias (las interleucinas 4, 10 y 13, los antagonistas de IL-1 y los receptores solubles de IL-1, TNF, IL-6 y de IL-8), juegan un papel primordial en el inicio y mantenimiento del estado inflamatorio de la sepsis. ⁽⁵⁾

La mayor susceptibilidad del neonato a las infecciones graves esta condicionada por su menor capacidad de respuesta inflamatoria aguda y la falta de anticuerpos protectores de clase IgG. ⁽⁶⁾

El uso de antibióticos sigue siendo el pilar en el manejo de la sepsis neonatal, sin embargo, la morbiletalidad por sepsis neonatal no ha disminuido significativamente a pesar de la disponibilidad de más y mejores antibióticos, así como la aparición de cepas resistentes a los antibióticos. ^(1,11) Los dos avances mas sólidos en la terapia auxiliar de sepsis neonatal están representados por la inmunoglobulina intravenosa (IgIV) y los factores estimulantes de colonias. Existe una gran cantidad de estudios publicados acerca de estas alternativas que sustentan varios hechos: la IgIV parece tener su principal indicación en los neonatos prematuros y de bajo peso con riesgo alto de infección neonatal, ^(15,16) mientras que los factores estimulantes de colonias están indicados cuando existe neutropenia grave en los neonatos, sin importar que sean de pretérmino o a término. ^(17,18)

Hasta el momento no se ha evaluado el efecto sobre la morbilidad y mortalidad de recién nacidos con sepsis neonatal tratados con terapia simultánea con IgIV y factor estimulante de colonias, por lo que se efectuó el presente trabajo con dicho propósito.

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

Las infecciones sistémicas por bacterias y hongos durante el primer mes de vida extrauterina continúan siendo una de las principales causas de muerte perinatal en todo el mundo. ⁽¹⁾ En los países mas desarrollados la letalidad por sepsis neonatal ha disminuido hasta establecerse en un promedio de 15% y la tasa de morbilidad sigue estando entre 8 y 12 por cada 1,000 recién nacidos vivos (RN), lo cual puede ser debido a que ahora sobreviven más neonatos de pretérmino de bajo peso, los cuales son más susceptibles a la infección por sus características inmunológicas inmaduras. ⁽²⁾ Por otro lado, en México y otras naciones en vías de desarrollo, la morbilidad también se reporta estancada en una tasa de 15 a 30 por cada 1,000 RN y la mortalidad sigue estando entre 25 y 30%, lo cual se puede atribuir a la menor disponibilidad de unidades de cuidados intensivos neonatales y de acceso a terapias coadyuvantes, coincidiendo con un aumento en el numero de RN prematuros que ingresan para su atención a los hospitales. ⁽³⁾

En el Instituto Nacional de Perinatología se reporta una incidencia de 15.4 casos de sepsis neonatal por cada 1000 recién nacidos vivos, cifra que puede considerarse elevada probablemente por el tipo de población de riesgo atendida en el hospital en lo que se refiere a embarazo de alto riesgo, obtención de productos de mayor inmadurez inmunológica, bajo peso al nacer y que requieren de un numero importante de maniobras invasivas para su sostén. ⁽⁴⁾ Tradicionalmente se ha establecido al grupo de enterobacterias y entre ellas *E coli* y *K. pneumoniae* como los principales agentes involucrados en la etiología de la sepsis neonatal en México; sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento importante de patógenos que anteriormente fueron considerados como comensales. En el estudio de Arredondo-García y cols, se documentó a *E coli* y *Streptococcus* sp como los principales agentes causales de sepsis neonatal temprana, y a *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Klebsiella* sp en sepsis de inicio tardío. ⁽⁴⁾

La sepsis neonatal se define como un síndrome clínico de enfermedad sistémica acompañado de bacteriemia (presencia de bacterias en sangre) que ocurre en los primeros 30 días de vida extrauterina. Se puede presentar de forma temprana, antes de los 4 días de vida o de forma tardía, posterior de 4 días de vida extrauterina. ⁽⁷⁾ La sepsis neonatal es básicamente una infección de origen nosocomial, aunque en los casos de sepsis temprana, los agentes causales se relacionan directamente con infecciones maternas. ⁽¹²⁾

La sepsis se establece cuando los microorganismos causales alcanzan la circulación diseminándose rápidamente a diferentes órganos y originando manifestaciones clínicas diversas que, de acuerdo con su gravedad, determinan las cuatro fases del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) que caracteriza a esta enfermedad y que son plenamente identificables, con algunas adecuaciones, en el neonato. Así, es posible identificar en neonatos la sospecha de sepsis o sepsis clínica, la sepsis grave, el choque séptico y la falla orgánica múltiple:

- I. *Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS)*: Dos o más de los siguientes:
 - Temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$, o $\leq 36^{\circ}\text{C}$
 - Frecuencia cardíaca $\geq 160 \text{ x'}$
 - Frecuencia respiratoria $\geq 60 \text{ x'}$
 - Cuentas de leucocitos $\geq 20 \times 10^9/\text{L}$, o $\leq 5 \times 10^9/\text{L}$
- II *Sepsis*:
 - SRIS más hemocultivo positivo
- III *Sepsis grave*:
 - Sepsis más disfunción orgánica, hipotensión o hipo perfusión
- IV. *Choque séptico*:
 - Sepsis grave con hipotensión que no responde a carga de líquidos

La mayor susceptibilidad del neonato a las infecciones graves está condicionada por su menor capacidad de respuesta inflamatoria aguda y la falta de anticuerpos protectores de clase IgG. ^(6, 37) Muchos de los componentes del sistema inmunológico del RN no están completamente desarrollados al nacimiento; ⁽⁷⁾ en particular, los fagocitos (granulocitos y macrófagos) de los prematuros muestran deficiencias en su quimiotaxis, menor adherencia de neutrófilos al endotelio, menor capacidad fagocítica y bactericida ⁽⁸⁾ y menor producción de metabolitos tóxicos del oxígeno indispensables para la destrucción de bacterias y hongos. ⁽⁹⁾

En los últimos años se ha dado una verdadera explosión en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis neonatal y sus complicaciones, así como el descubrimiento de mediadores hormonales e inmunológicos que intervienen directamente en la modulación de la respuesta inflamatoria del recién nacido a la infección. ⁽¹⁰⁾ La sepsis es la culminación de una serie de eventos iniciados por microorganismos (y sus productos proteicos o lipídicos) mediados por el propio sistema inmunológico del hospedero. Se ha demostrado que las citocinas, una familia de péptidos de señales celulares con propiedades pro-inflamatorias y anti-inflamatorias, juegan un papel primordial en el inicio y mantenimiento del estado inflamatorio de la sepsis. Entre las citocinas con actividades pro-inflamatorias encontramos al factor de necrosis tumoral (TNF) y las interleucinas (IL) 1, 2, 6, 8, 12 y IL-18; en tanto que existen otras proteínas estructuralmente muy semejantes a las anteriores, que actúan como anti-inflamatorias por su efecto de neutralización, bloqueo o inhibición de las pro-inflamatorias, entre las que se cuentan las interleucinas 4, 10 y 13, los antagonistas de IL-1 y los receptores solubles (sR) de IL-1, TNF, IL-6 y de IL-8. ^(5,35)

Una vez que se dispara la cascada inflamatoria por el estímulo infeccioso, por ejemplo endotoxina o lipopolisacárido bacteriano, los monocitos, macrófagos y otras células inmunocompetentes son estimuladas para sintetizar $\text{TNF}\alpha$, principal mediador inflamatorio, cuyas acciones más destacadas son la estimulación de la liberación de otras interleucinas pro-inflamatorias como IL-1, IL-6, IL-8, leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas, incrementa la producción de PMN por la médula ósea y aumenta su marginación, estimula la actividad antimicrobiana de mononucleares y PMN, promueve la aparición de moléculas de adhesión en células endoteliales, activa el sistema de complemento y la cascada de la coagulación, produce alteración de tono venoso vascular

y altera su permeabilidad, entre otras. Una vez secretado, el TNF α interactúa con al menos dos receptores de membrana (TNF-R1 y TNF-R2) presentes en prácticamente todas las células excepto eritrocitos. Ambos tipos de receptores existen también en forma soluble en el plasma y se les conoce como proteínas ligantes de TNF α , ejerciendo un antagonismo competitivo con los receptores de membrana y siendo su efecto dosis-dependiente.⁽³⁶⁾

El papel de la IL-1 en la mediación de la sepsis es similar a los del TNF. La IL-1 puede detectarse después de la infusión de lipopolisacárido (LPS) de bacterias gram-negativas, aunque la habilidad para detectar IL-1 es inconsistente y los niveles son bajos.⁽¹³⁾ La IL-1 es en realidad una familia de 3 proteínas, IL-1 α , IL-1 β , y el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1Ra), el cual es un antagonista que no posee actividad agonista comparada con los 2 primeros miembros de la familia. Las formas maduras de IL-1 α e IL-1 β son potentes incrementadores de respuestas inmunológicas pero también inductores muy potentes de respuestas inmunológicas e inflamación.^(10,14)

El uso de antibióticos sigue siendo el pilar en el manejo de la sepsis neonatal, sin embargo, la morbi-letalidad por sepsis neonatal no ha disminuido significativamente a pesar de la disponibilidad de más y mejores antibióticos, así como la aparición de cepas resistentes a los antibióticos.^(1,11) Los dos avances más sólidos en la terapia auxiliar de sepsis neonatal están representados por la inmunoglobulina intravenosa (IgIV) y los factores estimulantes de colonias. Existe una gran cantidad de estudios publicados acerca de estas alternativas que sustentan varios hechos: la IgIV parece tener su principal indicación en los neonatos prematuros y de bajo peso con riesgo alto de infección neonatal,^(15,16) mientras que los factores estimulantes de colonias están indicados cuando existe neutropenia grave en los neonatos, sin importar que sean de pretérmino o a término.^(17,18)

El modo de acción de la inmunoglobulina es complejo, involucrando la modulación de la expresión y función de los receptores Fc, interferencia con la activación del complemento y la red de citocinas, proporcionar anticuerpos anti-idiotipo, y los efectos sobre la activación, diferenciación, y funciones efectoras de las células T y B. *In vitro*, la IgIV es un inductor potente del IL-1Ra de monocitos,⁽¹⁹⁾ y este modulador de citocinas endógeno puede bloquear la unión de IL-1 a sus receptores en varios tipos celulares.⁽²⁰⁾ Se ha demostrado previamente que la administración de IgIV *in vivo* conlleva a un efecto similar sobre los niveles de IL-1Ra.⁽²¹⁾ Los efectos terapéuticos de la inmunoglobulina reflejan las funciones de los anticuerpos naturales en el mantenimiento de la homeostasis inmunológica. En los últimos 20 años, la inmunoglobulina ha llegado a ser el tratamiento preferido para el síndrome de Guillain-Barré, la poliradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, y la enfermedad de Kawasaki.

La IgIV parece tener su principal indicación en los neonatos prematuros y de bajo peso con riesgo elevado de sepsis neonatal. En estudios con neonatos de término en los que se ha aplicado IgIV se observó que mejoran su capacidad de respuesta a la infección y se acorta muy significadamente su estancia hospitalaria, sin embargo, no se han observado diferencias en la mortalidad,^(15,22) mientras que en RN prematuros existen muchos reportes que apoyan su uso temprano al ingresar a una unidad de cuidados intensivos por requerir medidas invasivas como catéteres, sondas, cánulas, punciones, etc.^(22,23) Las dosis recomendadas de IgIV van desde los 500mg/kg hasta 1 g/kg de peso.^(22,23)

Las características fisiológicas del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) son las de estimular a los neutrófilos pretérmino y de término a incrementar su quimiotaxis y respuestas de estallido respiratorio, ⁽²⁴⁻²⁶⁾ Sus efectos son semejantes al factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), sin embargo, el GM-CSF es una citocina que induce la proliferación y diferenciación temprana de progenitores hematopoyéticos multilinaje. ⁽²⁷⁾ Esto aumenta la cuenta de monocitos, macrófagos, y eosinófilos pero con menos efecto sobre la cuenta de neutrófilos. Además, el GM-CSF tiene un mayor efecto sobre la quimiotaxis y la función bactericida de los neutrófilos que el G-CSF ^(28,29)

Estudios en ratas recién nacidas han demostrado que tanto el G-CSF ⁽³⁰⁾ y el GM-CSF ⁽³¹⁾ puede aumentar la sobrevivencia después de una sepsis experimental. Los estudios sobre el uso del GM-CSF en neonatos humanos son limitados. Cairo y cols ⁽³²⁾ administraron placebo o GM-CSF (5 o 10 µg/kg por día por 7 días) a 20 recién nacidos de muy bajo peso en sus primeras 72 horas de vida. Un aumento significativo dosis-dependiente en las cuentas de neutrófilos tanto de sangre como de médula ósea duraron aproximadamente 5 días después de la administración de la última dosis. Este mismo grupo, subsecuentemente, aleatorizó 61 neonatos de muy bajo peso para recibir ya fuera placebo o GM-CSF (8 µg/kg por día por 28 días) iniciando a los 3 días de nacimiento. ⁽³³⁾ Ocurrió una reducción significativa (61%) en la incidencia de infección nosocomial en el grupo de tratamiento.

En un estudio reciente, ensayo clínico controlado aleatorizado de 60 recién nacidos con neutropenia y signos clínicos de sepsis, Bilgin y cols ⁽³⁴⁾ administraron una inyección subcutánea de rhGM-CSF (5 µg/kg por días por 7 días) a 30 recién nacidos. Veinticinco pacientes del grupo rhGM-CSF y 24 del grupo tratado convencionalmente presentaron sepsis de inicio temprano, y los 11 pacientes restantes tuvieron sepsis tardía. Los recién nacidos fueron semejantes en sus características demográficas y clínicas. Los autores encontraron que el tratamiento con rhGM-CSF se asoció con un incremento en las cuentas absolutas de neutrófilos, eosinófilos, monocitos, linfocitos y plaquetas, así como una disminución en la mortalidad en neonatos sépticos críticamente enfermos (10% vs 30%).

Los eventos adversos se han descrito muy rara vez con rhG-CSF o rhGM-CSF cuando se han usado en neonatos con sepsis. En relación con el rhGM-CSF solo se ha reportado una elevación importante en la cuenta plaquetaria. ⁽³²⁾

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

El recién nacido de término y pretérmino presenta una inmadurez inmunológica en lo que respecta a sus respuesta inflamatoria ante un proceso infeccioso como en el caso de la sepsis neonatal. Existe una mayor susceptibilidad del neonato a las infecciones graves secundaria a la falta de anticuerpos protectores de clase IgG, así como un desarrollo incompleto de la actividad fagocitaria de granulocitos y macrófagos.

Durante la sepsis neonatal existe liberación de mediadores pro-inflamatorios como TNF α e IL-1, capaces de estimular una respuesta inflamatoria no controlada con resultados adversos en el recién nacido. Se ha demostrado que la IgIV es capaz de inducir *in vitro* e *in vivo* la producción de inhibidores de esta respuesta, y que el GM-CSF estimula y mejora la función fagocitaria de granulocitos y macrófagos a través de expresión de receptores solubles para las citocinas pro-inflamatorias anteriormente mencionadas.

La sepsis neonatal continua siendo una causa importante de morbi-mortalidad primordialmente en neonatos de pretermino y de muy bajo peso al nacimiento, con una incidencia reporta de 10 a 15 % en la mayoría de los países. A pesar de que se dispone de nuevos antibióticos con espectro ampliado, el aumento de selección de cepas resistentes dificulta la evolución clínica de este tipo de pacientes.

Por lo anterior, es importante realizar estudios con terapias adyuvantes al tratamiento antimicrobiano que permitan mejorar la sobrevida de estos pacientes, que en su mayoría se encuentran en las unidades de cuidados intensivos neonatales de hospitales de tercer nivel. Hasta la fecha, no se encuentran estudios clínicos sobre el efecto del uso simultáneo de IgIV y GM-CSF en la respuesta del recién nacido a la infección, uno de los motivos por los que se realizó el presente estudio.

En este estudio se evaluó el efecto del tratamiento simultáneo con IgIV y GM-CSF en recién nacidos con datos clínicos de sepsis neonatal, con el propósito de evaluar la respuesta de mediadores pro- y antiinflamatorios.

METODOLOGIA

Lugar y duración

Unidades de cuidados intensivos neonatales del Instituto Nacional de Perinatología y Hospital Regional Valentín Gómez Farías del ISSSTE, Departamento de Infectología e Inmunología del Instituto Nacional de Perinatología del 1° de mayo de 1999 al 1° de noviembre de 2000.

Criterios de selección de pacientes

Se incluyeron recién nacidos de término y pretermino con evidencia clínica de infección y/o hemocultivo positivo e inicio de antibióticos dentro de las primeras cuatro semanas de vida extrauterina. Los criterios clínicos fueron 1) temperatura corporal anormal, no explicada por influencias ambientales, 2) dificultad respiratoria (incluyendo apnea) o datos de neumonía, 3) distensión abdominal o emesis, 4) alteración neurológica, definida ya sea como fiebre o hipotonía, e 5) hipotensión arterial. Los criterios de laboratorio fueron: leucocitosis definida como una cuenta total de leucocitos (CTL) $>20,000/\text{mm}^3$, leucopenia CTL $<5,000/\text{mm}^3$, neutropenia $<1,500/\text{mm}^3$, o una relación de bandas/neutrófilos (B/N) >0.2 .⁽³⁸⁾ Se solicitó consentimiento informado por escrito de los padres o del representante legal de cada neonato, según carta del anexo 1.

No se incluyeron neonatos con los siguientes criterios: choque séptico refractario y/o falla orgánica múltiple al momento de su evaluación inicial, transfusión previa con sangre u otro hemoderivado en las 48 horas previas al estudio, traslado de otras unidades médicas de las que se ignorase el manejo realizado, peso menor de 1000 gramos.

Fueron excluidos del estudio los neonatos cuyos padres decidieran retirar el consentimiento informado de participación, así como los recién nacidos en que se realizó exanguineotransfusión en las primeras 48 horas del estudio y los que fallecieron en las primeras 24 horas de su ingreso.

El estudio fue aprobado por los Comités de Investigación y Ética de las dos instituciones participantes.

Diseño del estudio

Los pacientes se asignaron aleatoriamente a los siguientes grupos de tratamiento:

1. Tratamiento con IgIV (500 mg/kg/dosis única) + rhGM-CSF (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ por 5 días).
2. Tratamiento con rhGM-CSF (5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ por 3 días).
3. Tratamiento con IgIV (500 mg/kg/dosis única).
4. Administración de albúmina serica humana libre de endotoxinas (500 mg/kg/dosis única).

Protocolo de tratamiento

Todos los pacientes fueron tratados con intervenciones terapéuticas convencionales incluyendo antibióticos, oxígeno suplementario, ventilación mecánica, líquidos intravenosas, drogas vasoactivas según fueran requeridas por los neonatólogos encargados. Los neonatos en el grupo de tratamiento con IgIV recibieron tratamiento con IgIV humana (Sandoglobulina, Novartis, Cruz Roja Suiza) para infusión IV al 3%. Los neonatos en el grupo de tratamiento con rhGM-CSF recibieron rhGM-CSF (Leucomax,

Novartis, United Kingdom), en presentación en polvo liofilizado y reconstituido a una concentración de 5µg/mL.

Todos los neonatos elegibles fueron aleatorizados a recibir ya sea IgIV, GM-CSF o placebo usando una tabla de números aleatorios generada previamente. Los participantes, investigadores y neonatólogos encargados estuvieron cegados a la asignación del tratamiento.

Evaluación de laboratorio

Se tomaron muestras sanguíneas basales para determinación de cuentas de leucocitos totales, neutrófilos totales, bandas totales y plaquetas antes de la administración de la primera dosis de IgIV, GM-CSF, IgIV + GM-CSF o placebo y se repitieron a las 24 horas, 72 horas y 7 días después de su administración o al momento del egreso o muerte si se presentó antes de los 14 días. Las cuentas sanguíneas completas se efectuaron electrónicamente, y las cuentas leucocitarias diferenciales se efectuaron manualmente en frotis de sangre teñidos con May-Grunwald-Giemsa.

Cuantificación de citocinas

Se obtuvieron muestras de sangre periféricas para determinar las concentraciones plasmáticas de IL-1, TNF-α, IL-1Ra, TNF-sR1 e IL-6, inmediatamente antes de la primera administración de IgIV, GM-CSF, IgIV + GM-CSF o placebo y se repitieron a las 24 horas, 72 horas y 7 días después de su administración. Las muestras fueron almacenadas a -70° C y analizadas en grupos. Estas citocinas se midieron mediante la técnica en sándwich de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas estandarizada con anticuerpos monoclonales.

Cálculo del tamaño de la muestra y análisis estadístico

Para el cálculo del tamaño de la muestra se empleó la siguiente fórmula: $n = Z^2 DS^2 / d^2$, tomando como valor DS la desviación estándar de los niveles de IL-1, TNFα, IL-1Ra o TNF-sR1 en humanos

Se empleó la prueba *t* de Student para muestras pareadas para la comparación entre los valores de las cuentas de leucocitos, neutrófilos y plaquetas, así como para las citocinas y sus antagonistas, contrastados con el valor basal. Se compararon las curvas de supervivencia con *t* de Wilcoxon los valores entre los grupos de tratamiento y el grupo control. Se estableció una correlación con *r* de Pearson entre los niveles de IL-1 y su antagonista, y entre TNF y su receptor soluble. Se tomó un valor alfa menor de 0.05 y se graficaron los resultados en histogramas.

RESULTADOS

Se incluyeron 40 recién nacidos en el estudio, con edades gestacionales entre 35.5 semanas y 37.2 semanas (Gráfica 1) y un peso que varió entre 2,300gr y 2,700g (Gráfica 2). Veinticinco pacientes (62.5%) fueron pretérmino, los cuales se distribuyeron de la siguiente manera: grupo IgIV +GM-CSF (n=10), grupo IgIV (n=7), grupo GM-CSF (n=4), grupo control (n=4). Quince pacientes (37.5%) de término, los cuales se distribuyeron de la siguiente manera: grupo IgIV +GM-CSF (n=2), grupo IgIV (n=7), grupo GM-CSF (n=2), grupo control (n=4). (Cuadro 1)

Los microorganismos aislados en los pacientes del estudio fueron los siguientes: *Staphylococcus aureus* en 6 (15%), *Staphylococcus epidermidis* en 8 (20%), *Staphylococcus hominis* en 1 (2.5%), *Staphylococcus simulans* en 1 (2.5%), *Streptococcus viridans* en 1 (2.5%), *Citrobacter* sp. en 1 (2.5%), *Escherichia coli* en 1 (2.5%), *Enterococcus faecalis* en 2 (5%), *Klebsiella pneumoniae* en 4 (10%), *Listeria monocytogenes* en 1 (2.5%), *Pseudomonas aeruginosa* en 2 (5%), *Candida albicans* en 1 (2.5%), *Candida parapsilosis* en 1 (2.5%). (Cuadro 2)

Entre los procedimientos de riesgo para adquisición de infecciones en estos pacientes se encontraron los siguientes: días de estancia intrahospitalaria, instalación de catéteres venosos central o umbilical, ventilación mecánica y nutrición parenteral total.

Las manifestaciones clínicas encontradas fueron similares en los cuatro grupos: fiebre, dificultad respiratoria, acidosis respiratoria, hipotonía, hepatomegalia, succión débil, esplenomegalia, ictericia, piel marmórea, cianosis, fenómenos vasomotores, distensión abdominal.

Los días de estancia intrahospitalaria fueron para el grupo IgIV + GM-CSF de 17 días, para el grupo IgIV de 14 días, para el grupo GM-CSF de 24 días, y para el grupo control de 16 días; con una $p < 0.05$. (Gráfica 3). No se registraron muertes durante el período de estudio en ninguno de los 4 grupos de tratamiento.

En relación a los resultados encontrados en la biometría hemática llama la atención el incremento en la cuenta total de leucocitos (CTL) en los grupos tratados con GM-CSF, lo cual es esperado por el mecanismo de acción de este factor ya comentado previamente. grupo albúmina (CTL = $12,881 \pm 1,058$), grupo IgIV (CTL = $13,382 \pm 606$), grupo GM-CSF (CTL = $18,529 \pm 3133$), grupo GM-CSF + IgIV (CTL = $20,955 \pm 5,250$), con una $p < 0.001$. (Gráficas 4, 5, 6)

En las primeras 72 horas la concentración de inhibidores permaneció alta en el grupo control y disminuyó notablemente a los 7 días de tratamiento.

La IL-Ra y los receptores solubles aumentaron entre 100 y 1000 veces con respecto a la IL-1 β y a TNF α .

El aumento más notable fue en el IL-sR1 en el grupo tratado con GM-CSF + IgIV con respecto al testigo ($p = 0.016$) y a los otros dos grupos ($p < 0.05$).

DISCUSION

La sepsis bacteriana es una causa principal de morbilidad y mortalidad neonatal. El manejo exitoso de la sepsis neonatal requiere un diagnóstico temprano, un tratamiento antimicrobiano apropiado, aunado al cuidado intensivo agresivo. Sin embargo, aún cuando se han dado pasos apropiados, la tasa de mortalidad asociada a sepsis neonatal continúa siendo elevada, particularmente entre ciertos subgrupos, como los neonatos pretérmino, y los de muy bajo peso al nacimiento, así como los neonatos que desarrollan neutropenia temprana. Muchos factores contribuyen a la susceptibilidad aumentada a la infección, incluyendo defectos del desarrollo cuantitativo y cualitativo de los neutrófilos. Los estudios en neonatos animales y humanos infectados sugiere que el uso de factores estimulantes de colonias como el factor estimulante de colonias de granulocitos recombinante humano (rhG-CSF) o el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos recombinante humano (rhGM-CSF) pueden contrarrestar parcialmente estos defectos y por lo tanto reducir la morbilidad y mortalidad. Sin embargo, la evidencia clínica actual aún no es suficiente para recomendar rhG-CSF o rhGM-CSF como terapia de rutina adyuvante al tratamiento para neonatos con sepsis.⁽³⁹⁾

En el presente estudio encontramos resultados satisfactorios en el grupo en el que se administró IgIV + GM-CSF, en el que se observó que los pacientes presentaron manifestaciones clínicas no graves, así como un incremento en la cuenta leucocitaria posterior a las 72 horas de su administración. Así mismo, se observó incremento en la cuenta de plaquetas a los 7 días de la administración. En cuanto a la cuenta de neutrófilos en banda se observó una disminución importante a los 7 días de su administración, lo que se traduce en la mejoría clínica y el acortamiento de los días de estancia intrahospitalaria. La concentración de los inhibidores en el grupo tratado con GM-CSF + IgIV permaneció elevada en las primeras 72 horas y disminuyó notablemente a los 7 días de administración del tratamiento, el aumento más notable fue en la IL-1sR2 en el grupo manejado con GM-CSF + IgIV con respecto a los demás grupos. Por lo que se puede concluir que la administración conjunta de dichos mediadores ayudan a disminuir la respuesta inflamatoria sistémica y ver este tratamiento como una alternativa adyuvante en el manejo del recién nacido infectado.

CONCLUSIONES

La gran dispersión en algunos datos expresa patrones individuales de síntesis y secreción, posiblemente debido a los polimorfismos de receptores de IL-1 y FNT α recientemente descritos.

Los recién nacidos con mayores concentraciones de sR y menores de IL-6, IL-1 β y TNF α , tuvieron una evolución clínica más favorable. Esta condición fue más común en el grupo de tratamiento con GM-CSF + IgIV.

No se observaron efectos secundarios atribuibles a la administración de IgIV o de GM-CSF.

El tratamiento de la sepsis neonatal con la combinación de IgIV y GM-CSF se asocia con un aumento de IL-1Ra y de los receptores solubles de IL-1 y TNF α , efecto similar al observado previamente *in vitro*.

La mejoría clínica puede explicarse en parte por una inducción facilitada *in vivo* de los inhibidores naturales de estas dos citocinas pro-inflamatorias.

La rápida disminución de la IL-6 indica que la respuesta inflamatoria sistémica disminuye por efecto de la combinación de IgIV y GM-CSF.

BIBLIOGRAFIA:

1. Bhutta ZA. Neonatal infections. *Curr Opin Pediatr* 1997;9:133-40.
2. Gladstone IM, Ehrenkranz RA, Edberg SC, Baltimore RS. A ten-year review of neonatal sepsis and comparison with the previous fifty-year experience. *Pediatr Infect Dis J* 1990;9:819-25.
3. Mancilla-Ramírez J. Sepsis en el neonato de pretérmino. En: Gómez-Gómez M, editor. *Temas selectos sobre el recién nacido prematuro*. México: distrib. Edit Mex;1990. p. 289-304.
4. Arredondo-García JL, Ortiz-Ibarra FJ, Solórzano-Santos F, Segura-Cervantes E, Beltrán-Zúñiga M. Etiología de la septicemia neonatal en una unidad de perinatología. Informe de siete años. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1994;51:317-23.
5. Mancilla-Ramírez J. Utilidad de las citocinas en el diagnóstico de sepsis neonatal. *Medicina basada en evidencias*. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 2000;57:581-588.
6. Que PG. Antimicrobial defenses in the neonate. *Semin Perinatol* 1990, 14 Supl.2
7. Klein JO. Neonatal sepsis. *Semin Pediatr Infect Dis* 1994; 5:3-8.
8. Hill HR. Biochemical, structural and function abnormalities of polymorphonuclear leukocytes in the neonate. *Pediatr Res* 1987; 22:375-82.
9. Falconer AE, Carr R, Edwards SW. Impaired neutrophil phagocytosis in preterm neonates: lack of correlation with expression of immunoglobulin or complement receptors. *Biol Neonate* 1995; 68:264-9.
10. Mancilla J, García P, Dinarello CA. Interleukin-1 receptor antagonist can either reduce or enhance the lethality of *Klebsiella pneumoniae* sepsis in newborn rats. *Infect Immunity* 1993;61:926-32.
11. Yancey MK, Duff P, Kubilis P, Clark P, Frentzan B H. Risk factors of neonatal sepsis. *Obstet Gynecol* 1996; 87:188-94.
12. Gaynes RP, Edwards JR, Jarvis WR, Culver DH, Tolson JS, Martone WJ. Nosocomial infections among neonates in high-risk nurseries in the United States. *Pediatrics* 1996;98 357-61.
13. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA, et al: Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis* 1990; 161:79-84.
14. Granowitz EV, Clark BD, Mancilla J, Dinarello CA. Interleukin-1 receptor antagonist competitively inhibits the binding of interleukin-1 to the type II interleukin-1 receptor. *J Biol Chem* 1991; 266; 14147-50.
15. Solórzano-Santos F, Ortiz-Ibarra FJ, Arredondo-García JL, y cols Gammaglobulina intravenosa como coadyuvante en el tratamiento de la septicemia del recién nacido de pretérmino. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1992; 49:80-8.
16. Mancilla-Ramírez J, Arredondo-García JL. Avances y promesas en la inmunoterapia de sepsis neonatal. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1999;56:109-120.
17. Carr R, Modi N. Haemopoietic colony stimulating factors for preterm neonates. *Arch Dis Child* 1997;76:128-33.
18. Sreenan C, Osiovich H. Myeloid colony-stimulating factors. Use in the newborn. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153:984-988.
19. Arend WP, Leung DYM. Induction of IL-1 receptor antagonist production by human monocytes. *Immunol Rev* 1994;139:71-78.

20. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996; 87:2095-2147.
21. Aukrust P, Muller F, Svenson M et al. Administration of intravenous immunoglobulin (IVIG) in vivo –down-regulatory effects on the IL-1 system. *Clin Exp Immunol* 1999; 115:136-143.
22. Mancilla-Ramírez J, González-Yunez A, Castellanos-Cruz C, García-Roca P, Santos-Preciado JJ. Inmunoglobulina intravenosa en el tratamiento de septicemia neonatal. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1992; 49:4-11.
23. Baker CJ, Melish ME, Hall RT, Casto DT, Vasan U, Givner LB. Intravenous immune globulin for the prevention of nosocomial infection in low birth weight neonates. *N Engl J Med* 1992; 327:213-9.
24. Jawson MS, Jones MH, Lynch DC. The effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor on the neutrophil respiratory burst in the term and preterm infant when studied in whole blood. *Pediatr Res.* 1994; 36:623-7.
25. Cairo MS, van de Ven C, Gauss D, Sender L. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor primes neonatal granulocytes for enhanced oxidative metabolism and chemotaxis. *Pediatr Res.* 1989; 26:395-399.
26. Frenck RW Jr., Buescher ES, Vadhan-Raj S. The effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor on in vitro cord blood granulocyte function. *Pediatr Res.* 1989; 26:43-48.
27. Nemunaitis J. Granulocyte macrophage-colony-stimulating factor: a review from preclinical development to clinical application. *Transfusion.* 1993;33:70-83.
28. Rapport AP, Abboud CN, DiPersio JF. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): receptor biology, signal transduction, and neutrophil activation. *Blood Rev* 1992; 6:43-57
29. Sullivan GW, Harper HT, Mandell GL. The effect of three human recombinant hematopoietic growth factors (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, granulocyte colony stimulating factor, and interleukin-3) on phagocyte oxidative activity. *Blood.* 1993; 81:1863-1870.
30. Cairo MS, Plunkett JM, Gauss D, van de Venn C. Seven-day administration of recombinant murine granulocyte-macrophage colony stimulating factor to newborn rats: modulation of neonatal neutrophilia, myelopoiesis, and group B streptococcus sepsis. *Blood* 1990; 76:1788-1794.
31. 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; 162:109-114.
32. Cairo MS, Christensen RD, Sender LS, et al. Results of a phase I/II trial of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in very low birth weight neonates: significant induction of circulatory neutrophils, monocytes, platelets, and bone marrow neutrophils. *Blood* 1995; 86:2509-2515.
33. Cairo M, Suen T, Fanaroff A, et al. A double-blinded, randomized, placebo controlled pilot study of rhGM-CSF in low-birth-weight neonates: preliminary results demonstrate a significant reduction in nosocomial infection with rhGM-CSF. *Pediatr Res* 1996; 39:294a.

34. Bilgin K, Yaramis A, Haspolat K et al. A randomized trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in neonates with sepsis and neutropenia. *Pediatrics* 2001; 107:36-41.
35. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991; 115:457-469.
36. Tracey K, Cerami A. Tumor necrosis factor: An updated review of its biology. *Crit Care Med* 1993; 21:S415-S422
37. Lewis DV, Wilson CB. Developmental immunology and role of the host defenses in neonatal susceptibility to infection. En: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus and the newborn*. 4a ed. Philadelphia: WB Saunders Co. 1995; p:835-90.
38. Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, et al. The neonatal blood cell count in health and disease: reference value for neutrophilic cells. *J Pediatr* 1979; 95:89-98.
39. Bernstein HM, Calhoun DA, Christensen RD. Use of myeloid colony-stimulating factors in neonates with septicemia. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14:91-94.

ANEXO 1

TEXTO DECLARATORIO CONSENTIMIENTO INFORMADO

YO _____
(Nombre del participante o de su representante legal)

Declaro libremente que estoy de acuerdo en participar (en que participe mi representado cuyo nombre aparece abajo) en esta investigación cuyo objetivo, procedimientos, beneficios, y riesgos se especifican en el Apartado A de este documento.

Es de mi conocimiento que los investigadores me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que, al momento de firmar la presente, no hubiese expresado o que surja durante el desarrollo de la investigación.

Se me ha manifestado que puedo retirar mi consentimiento de participar en cualquier momento sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione, se vea afectada por este hecho.

Se me ha informado que el participar en este estudio no repercutirá en el costo de la atención médica que se me deba brindar y que toda la información que se otorgue sobre mi (su) identidad y participación será confidencial, excepto cuando yo lo autorice.

Para los fines que se estime conveniente, firmo la presente junto al investigador que me informó y dos testigos, conservando una copia de a) Consentimiento informado y de b) Información proporcionada para obtener mi autorización.

México DF a _____ de _____ de _____.

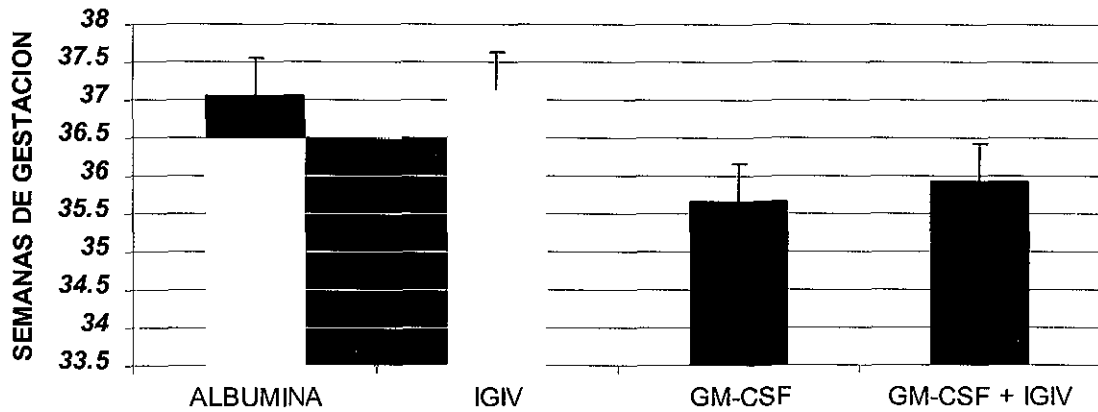
NOMBRE

FIRMA

PARTICIPANTE O
REPRESENTANTE:
INVESTIGADOR:
TESTIGO 1:
TESTIGO 2

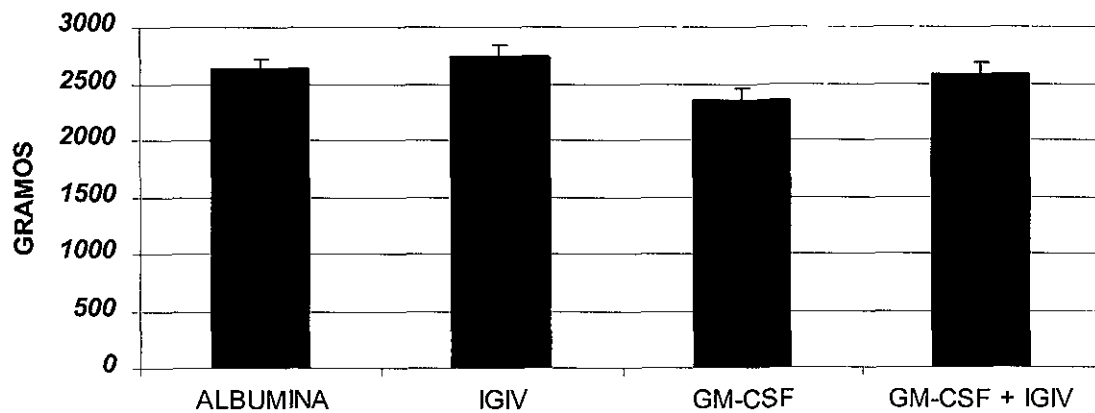
ANEXO 2: GRAFICAS Y CUADROS

GRAFICA 1. EDAD GESTACIONAL (SEMANAS)



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 2. PESO (GRAMOS)



UNA TESIS NO SALE
DEBIDA A LA FALTA DE

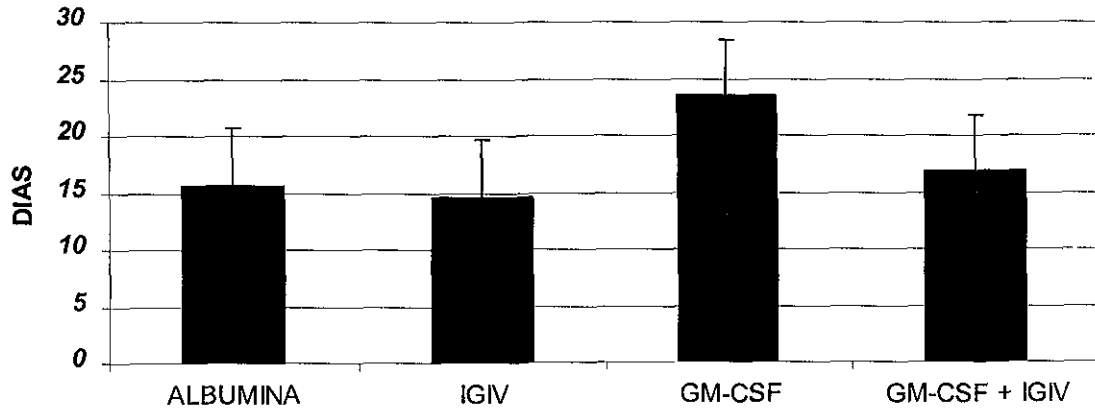
CUADRO 1. PACIENTES POR GRUPO DE TRATAMIENTO Y EDAD GESTACIONAL

	PRETERMINO	A TERMINO	TOTAL
ALBUMINA	4	4	8
IgIV	7	7	14
GM-CSF	4	2	6
GM-CSF + IgIV	10	2	12
TOTAL	25	15	40

CUADRO 2. MICROORGANISMOS AISLADOS EN RN CON SEPSIS NEONATAL

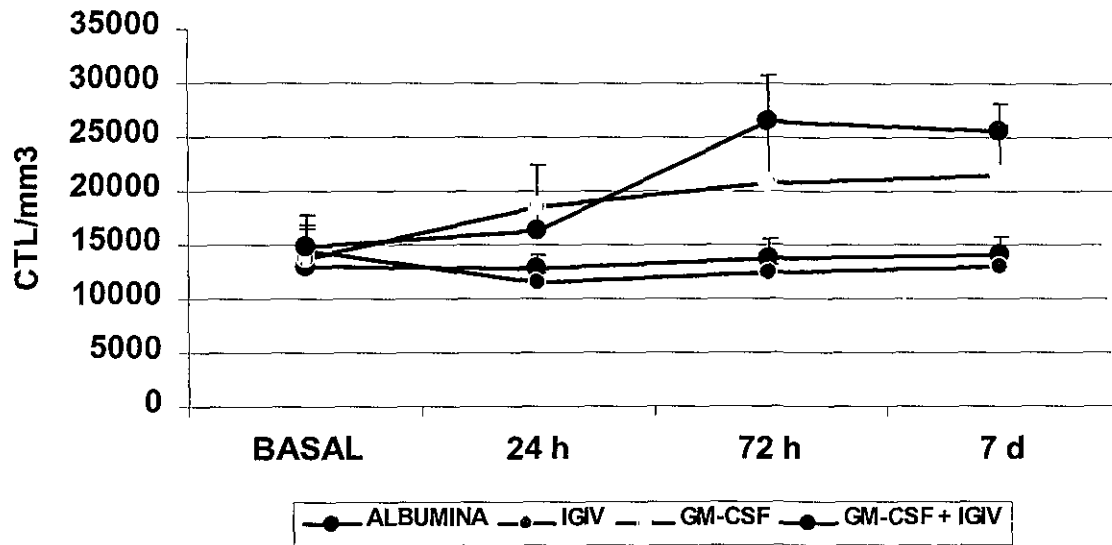
MICROORGANISMO	ALBUMINA	IGIV	GM-CSF	GM-CSF + IGIV
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	4	1	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	1	2	3
<i>Staphylococcus hominis</i>	-	-	-	1
<i>Staphylococcus simulans</i>	-	1	-	-
<i>Streptococcus viridans</i>	-	-	1	-
<i>Citrobacter spp</i>	-	1	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	1	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	1	-	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2	1	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	-	-
<i>Candida albicans</i>	1	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	-	1
TOTAL	5	12	5	8

GRAFICA 3. ESTANCIA HOSPITALARIA (DIAS)



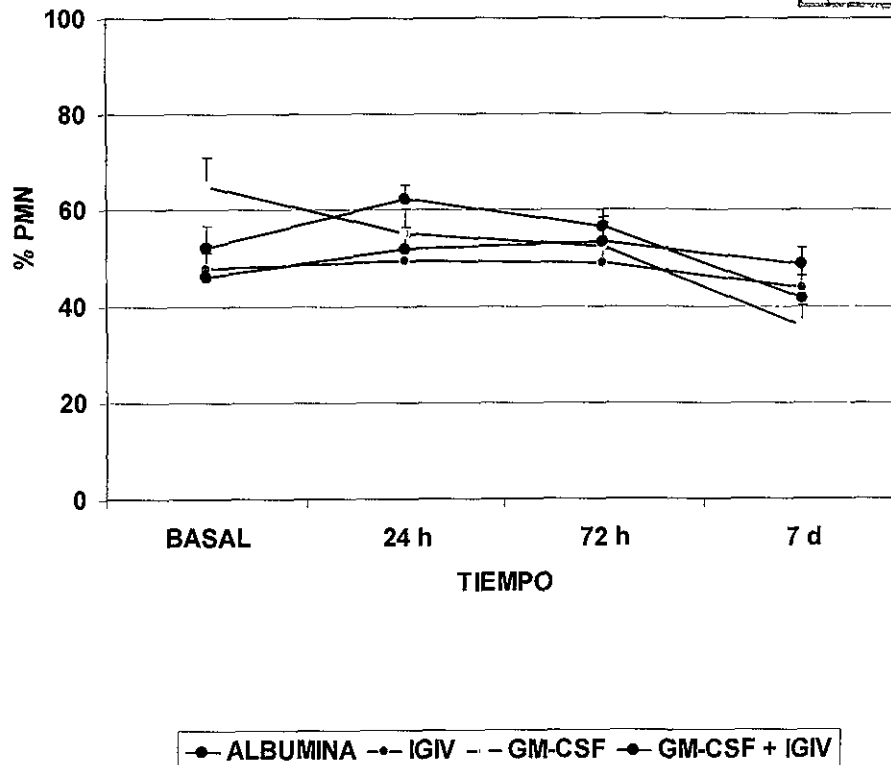
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 4. CUENTA DE LEUCOCITOS

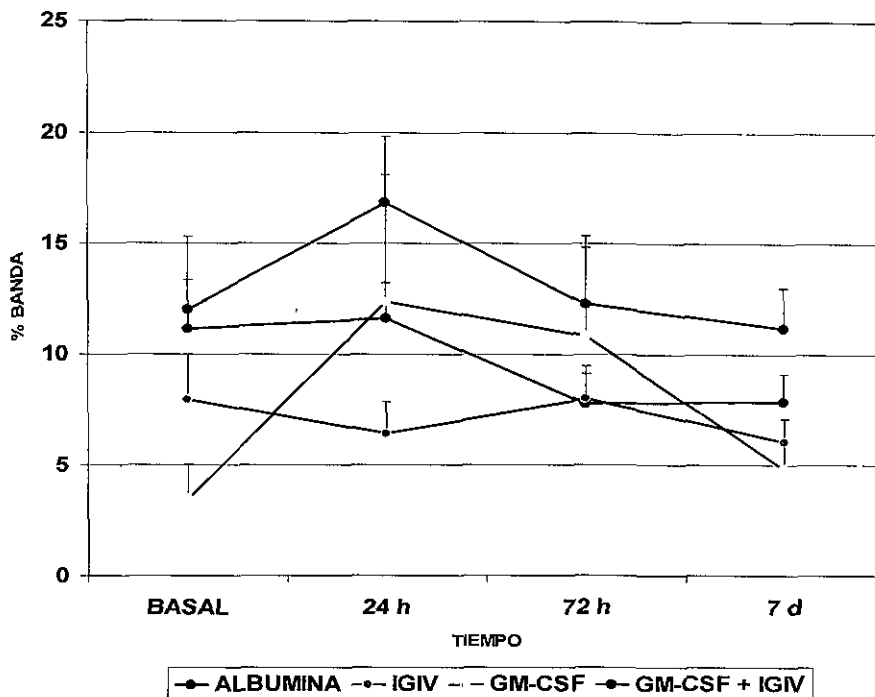


GRAFICA 5. CUENTA DE NEUTROFILOS

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



GRAFICA 6. CUENTAS DE NEUTROFILOS EN BANDA



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 7. Interleucina-6

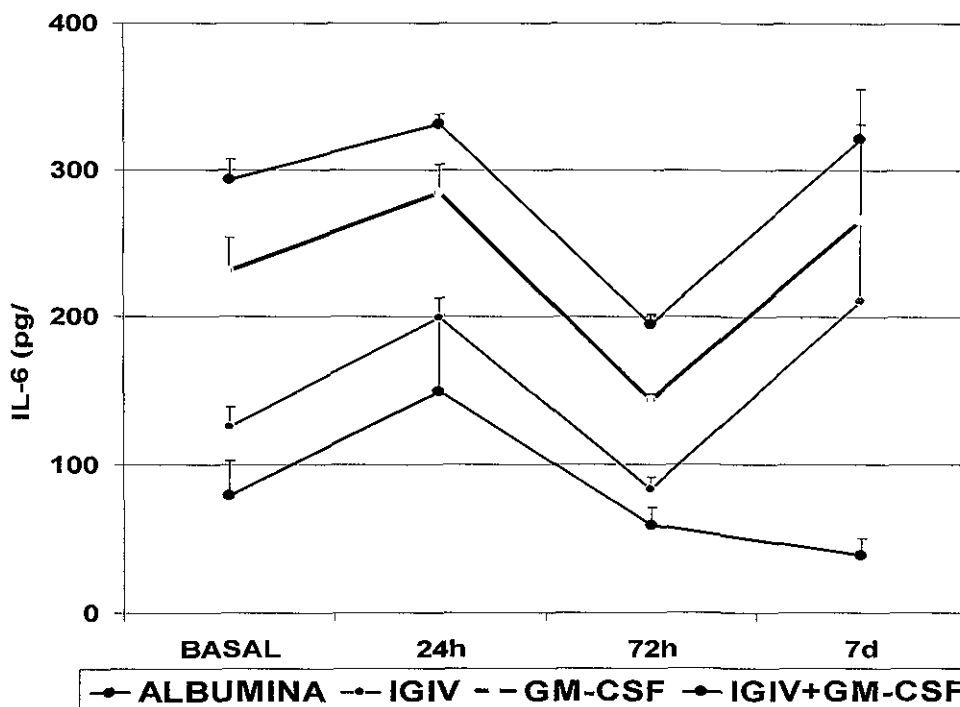
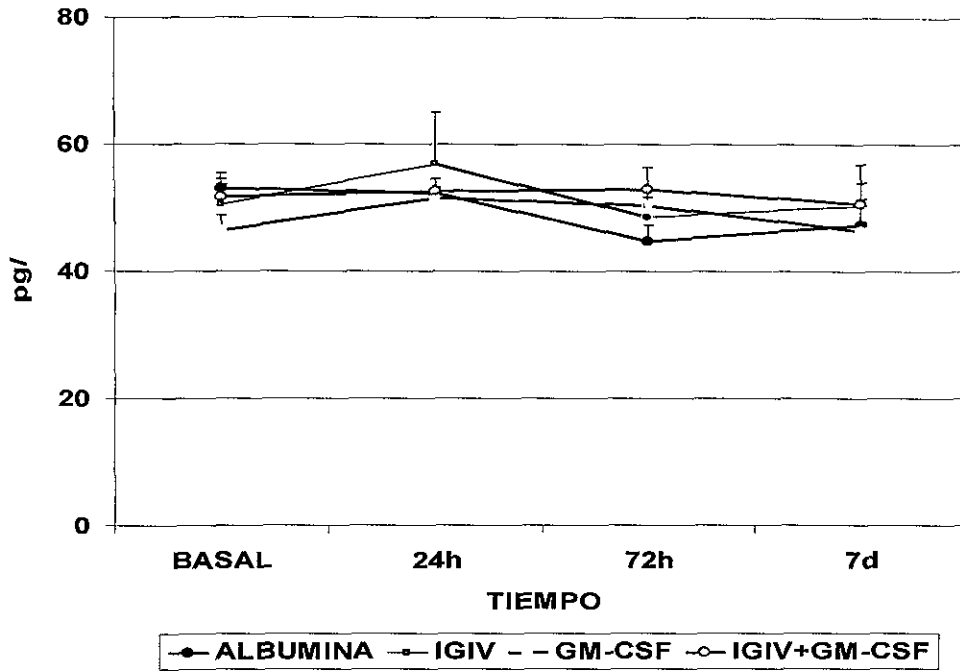
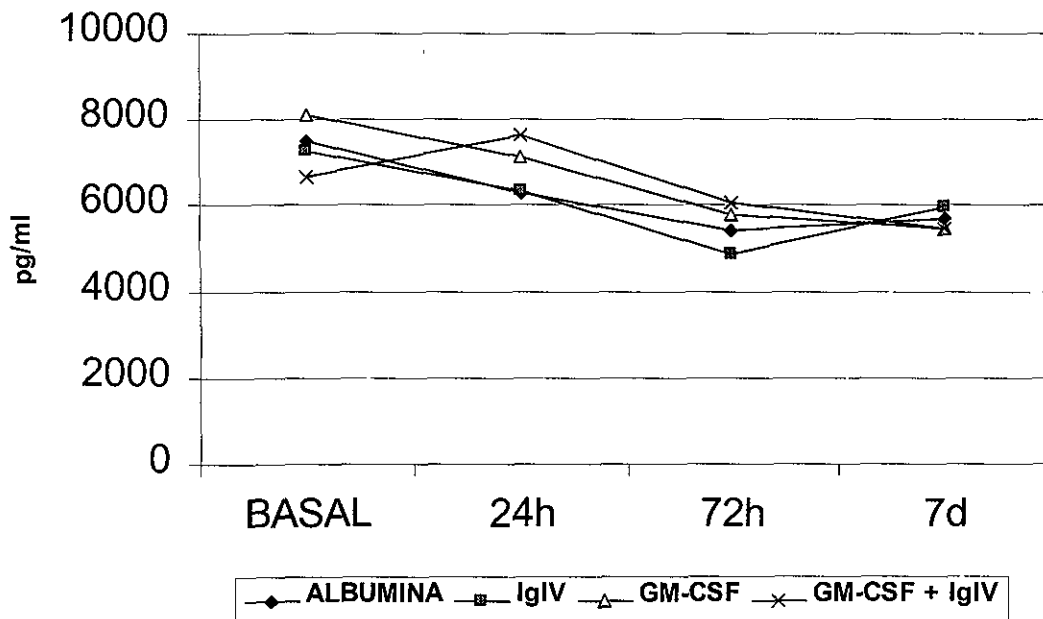


GRAFICO 8. Interleucina-1

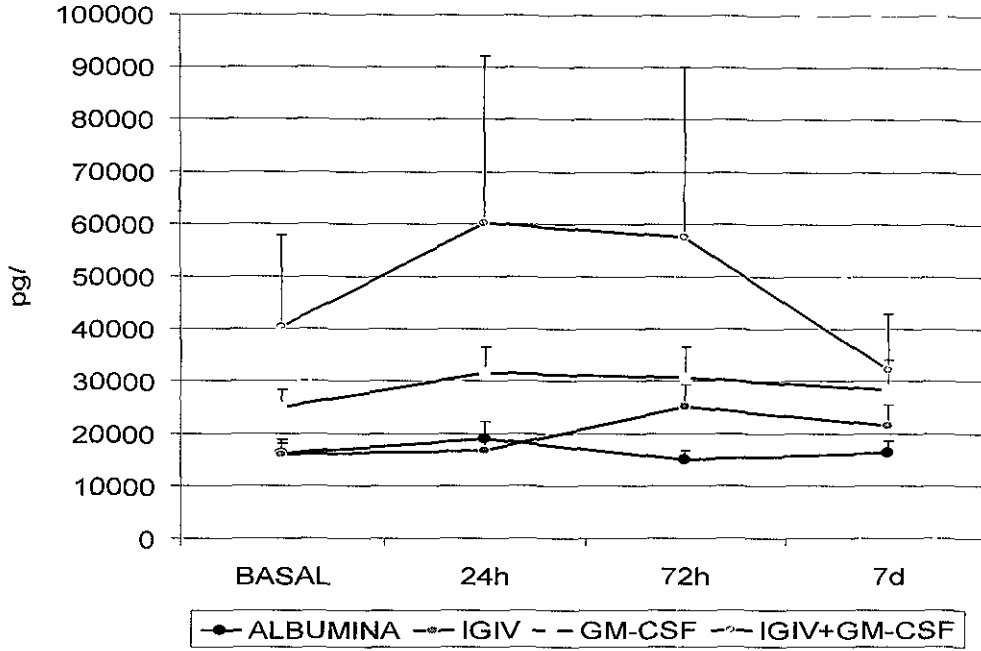


GRAFICA 9. Antagonista del receptor de IL-1 (IL-Ra)

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



GRAFICA 10 Receptor soluble de IL-1



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

GRAFICO 11. Receptor soluble de TNF sR1

