



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO FACULTAD DE MEDICINA
CENTRO MÉDICO NACIONAL
"20 DE NOVIEMBRE"
ISSSTE

EXPERIENCIA EN EL USO DEL EXTRACTO DIALIZABLE
LEUCOCITARIO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON SEPSIS Y
CHOQUE SÉPTICO

Número de Registro: 223.2015

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN INMUNOLOGÍA CLÍNICA Y ALERGIA

PRESENTA:

DR. MARIO ALBERTO YNGA DURAND

ASESORES:

DRA. MARÍA EUGENIA VARGAS CAMAÑO.

DRA. MARÍA ISABEL CASTREJÓN VÁZQUEZ.

DRA. MARIA LAURA LAUE NOGUERA





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.

DRA. AURA ERAZO VALLE SOLÍS.

Subdirectora de Enseñanza e Investigación. CMN 20 de Noviembre

DRA. MARÍA EUGENIA VARGAS CAMAÑO.

Profesora titular del Curso de Posgrado Inmunología Clínica y Alergia.
Jefa del Servicio Inmunología Clínica y Alergia, CMN 20 de Noviembre.

DRA. MARÍA ISABEL CASTREJÓN VÁZQUEZ.

Asesora de Tesis.

Profesora adjunta del Curso de Posgrado de Inmunología Clínica y Alergia.
Médica adscrita del Servicio de Inmunología Clínica y Alergia, CMN 20 de Noviembre.

DR. MARIO ALBERTO YNGA DURAND

Médico Residente.
CMN 20 de Noviembre.

AGRADECIMIENTOS

A mis amados Vanessa y Mario Agustín.

A mis padres y hermanas.

A mis maestros.

INDICE

Resumen	5
Abstract	6
1. Introducción	7
2. Justificación	11
3. Hipótesis.....	11
4.Objetivos.....	11
5.Material y Métodos.....	12
6.Resultados.....	17
7. Discusión	26
8. Bibliografía.....	28
9. Anexos.....	31
12.1. Anexo No. 1	31

Resumen

Introducción: Sepsis y el choque séptico son causas importantes de mortalidad en pacientes hospitalizados en terapia intensiva. Se considera que la disregulación inmunológica es un factor preponderante en la patogénesis y fisiopatología de la sepsis. Las intervenciones inmunológicas han sido propuestas como objetivo terapéutico. Dentro de los inmunomoduladores, el extracto leucocitario dializable (ELD) ha sido utilizado de manera anecdótica con respuesta variadas.

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo, observacional, analítico, de casos y controles. Se revisaron los expedientes de 114 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. Se examinaron variables demográficas, presencia de comorbilidad hematoológica y niveles de reactantes de fase aguda, así como poblaciones celulares al ingreso y a las 72 horas de iniciado el tratamiento en el grupo ELD o a las 72 horas del ingreso a UTIP en el grupo control. Se identificó la distribución de las variables y se realizó el análisis estadístico.

Resultados: Se observó diferencia estadísticamente significativa entre el grupo ELD y el grupo control en la PCR inicial (279 vs 87, $p < 0.001$), VSG inicial (27 vs 17, $p < 0,021$), neutrófilos al ingreso (16890 vs 1900, $p < 0.001$) y relación linfocitos/neutrófilos inicial (0.22 vs 0.85, $p < 0.001$). Tras 72 horas del tratamiento en el grupo ELD, vs 72 horas de ingreso en grupo control se observó diferencias significativas en el Δ PCR (3,13 vs 0,71, $p < 0.0001$), Δ VSG (5.4 vs 0.73, $p < 0.0001$), Δ linfocitos (1.36 vs 0.75, $p < 0.00001$), neutrófilos final (6670 vs 2100, $p < 0,01$) y linfocitos final (2450 vs 1445, $p < 0.02$). El grupo ELD se asoció a menor mortalidad (46.2% vs 82%. $p < 0.01$) y más días de ventilación (16 vs 5, $p < 0.01$).

Discusión

El uso de ELD en pacientes con sepsis se asocia a menor mortalidad y a cambios inmunológicos sugerentes de inmunomodulación. Se halló que el uso de ELD se asoció a mayor disminución de PCR y VSG, y menor disminución de linfocitos. Se requieren estudios prospectivos para explorar su uso clínico.

Palabras Clave

Sepsis, Choque Séptico, Extracto Leucocitario Dializable, Inmunomodulación

Experience in the use of dialyzable leucocyte extract in pediatric patients with sepsis and septic shock

Introduction: Sepsis and septic shock are important mortality causes in critical care units. Immunologic dysregulation may be a relevant factor in sepsis pathogenesis and physiopathology. Immunological interventions have been proposed as a therapeutic tool. The dialyzable leucocyte extract (DLE), an immunomodulatory agent, has been used anecdotally with unclear results.

Methods and Materials: This is a retrospective, observational, analytical, case control study. 114 medical records that met inclusion were reviewed. Demographic data, presence of hematology oncology comorbidities, acute phase reactants, and cellular populations were analyzed at the critical care unit admission day and 72 hours after DLE was started in the case group or after 72 hours the admission day in control group. Data distribution was assessed and statistical analysis was used.

Results: Statistical significant difference was observed between DLE group and control group in initial CRP (279 vs 87, $p < 0.001$), initial ESR (27 vs 17, $p < 0.021$), initial neutrophils (16890 vs 1900, $p < 0.001$) y lymphocyte/neutrophil initial index (0.22 vs 0.85, $p < 0.001$). Data recollected 72 hours after DLE treatment vs 72 hours from admission in control group showed statistical significant difference in Δ PCR (3,13 vs 0,71, $p < 0.0001$), Δ VSG (5.4 vs 0.73, $p < 0.0001$), Δ lymphocytes (1.36 vs 0.75, $p < 0.00001$), final neutrophils (6670 vs 2100, $p < 0,01$) and final lymphocytes (2450 vs 1445, $p < 0.02$). DLE treatment was associated with less mortality (46.2% vs 82%. $p < 0.01$) and more days under mechanical ventilation (16 vs 5, $p < 0.01$)

Discussion: DLE administration in pediatric sepsis patients was associated with less mortality and immunological changes suggestive of immunomodulation. DLE use was associated with greater reduction of CRP and ESR, and smaller decrease in lymphocytes. Prospective studies are needed to explore its therapeutic use

Key words:

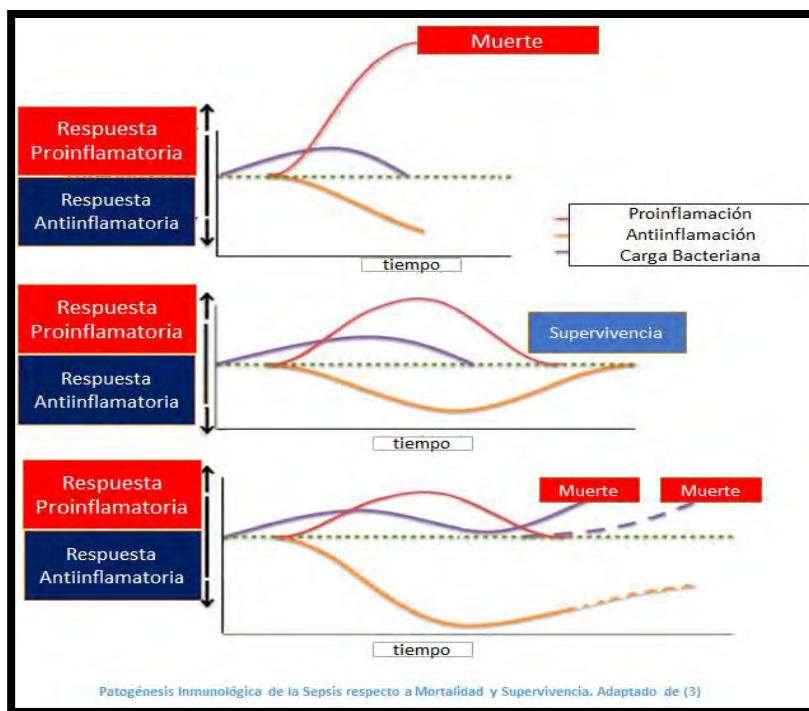
Sepsis, Septic Shock, dialyzable leucocyte extract, Immunomodulation

1. INTRODUCCIÓN

Sepsis es una de las causas más importante de mortalidad en pacientes hospitalizados y un motivo frecuente de ingreso a las unidades de terapia intensiva. La incidencia de sepsis ha aumentado alrededor del mundo en aproximadamente 10% en los últimos 25 años. El Consenso Internacional de Sepsis y Disfunción Orgánica ha señalado lineamientos para conceptualizar esta entidad heterogénea. Se considera a la Sepsis como un espectro que va desde el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) hasta el choque séptico. Tomando en cuenta que la etiología infecciosa no es el único desencadenante de SRIS, se ha tomado como base fisiopatológica la alteración inmunológica (1).

Existen tres hipótesis respecto a la patogénesis de esta alteración. La primera destaca los mecanismos de hiperactivación inmune con una respuesta inflamatoria descontrolada, la segunda hace énfasis en una falla primaria de los mecanismos contrarreguladores, y la tercera menciona una inmunoparálisis progresiva. Existe evidencia básica y clínica que apoya las tres hipótesis y el paradigma actual las considera como coexistentes y coadyuvantes en el espectro de sepsis y SRIS (2).

Grafico 1: Respuesta Inmunológica y Sepsis



La barrera inicial de protección frente a las infecciones está representada por el sistema inmunológico innato. Existe un reconocimiento inicial de estructuras microbiológicas altamente conservadas llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP Pathogen associated molecular patterns) identificados por receptores de reconocimiento de patrón (PRR pattern recognition receptors) hallados en macrófagos, monocitos y células dendríticas. Esto resulta en la activación de señales intracelulares dependientes de varios factores (carga bacteriana, virulencia, comorbilidades del anfitrión y factores genéticos entre otros) lo que desencadena una respuesta de magnitud variable que puede llevar a una inflamación sistémica nociva, con los subsecuentes signos y síntomas de la entidad clínica definida como SRIS.

La fase inicial es considerada de hiperinflamación y su objetivo final es la erradicación del patógeno. Se caracteriza por la producción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α Tumor necrosis factor alpha), IL-1b, IL-6 e interferón gamma (IFN gamma), así como quimiocinas que incluyen CCL2, CCL3, CCL6 y CXCL8. Se estimula la función efectora de neutrófilos, macrófagos y linaje Th1 exacerbando la inmunidad celular.

Estas respuestas tienen efecto sobre el sistema de complemento y la cascada de coagulación produciendo el cuadro clínico característico del choque séptico con inestabilidad hemodinámica, estados de coagulación alterados y disfunción orgánica múltiple. Si bien existen algunas formas de sepsis asociadas a niveles muy aumentados de citocinas que correlacionan con mortalidad temprana (como en la meningococemia), en general los niveles no son excesivamente altos y existen signos tempranos de inmunosupresión.

Observaciones como apoptosis linfocitaria e inactivación monocítica han explicado el fracaso de terapias de supresión inmunológica que exacerbaban esta inmunodeficiencia aumentando en algunos estudios la mortalidad. Simultáneamente a la respuesta proinflamatoria se desarrolla una reacción antiinflamatoria para prevenir daño tisular colateral. La antiinflamación demasiado sostenida puede llevar a la inmunoparálisis, un estado profundo de

inmunosupresión que puede durar días o semanas tras la lesión inicial, con un riesgo aumentado de infecciones oportunistas. Múltiples investigaciones sugieren que no es la presencia de procesos inmunosupresores los responsables de la mortalidad sino la falta de recuperación inmunológica (3).

Es claro que las diferentes fases de la sepsis son simultáneas con un rol antiinflamatorio más pronunciado en las etapas tardías. Entre los defectos identificados están la disminución de respuestas de linfocitos, menor expresión de antígenos de superficie en monocitos, apoptosis de linfocitos aumentada, disfunción de las células dendrítica y producción alterada de anticuerpos (3).

Debido a la gravedad de la enfermedad, sepsis y SRIS son un problema común en las unidades de cuidados intensivos. El desarrollo del tratamiento basado en metas ha logrado disminuir la mortalidad, así como avances en soporte hemodinámico, renal y ventilatorio. El uso de antibióticos de amplio espectro ha influido positivamente en los resultados, y actualmente es considerada la piedra angular del tratamiento en sepsis, sin embargo, basándose en la patogénesis se han buscado estrategias que modifiquen la respuesta inmune anómala en el paciente, reconociendo la necesidad de inmunomoduladores como adyuvantes para lograr un mejor pronóstico (3).

El medicamento inmunológico ideal para sepsis y SRIS debe combinar mecanismos antiinfecciosos, inmunoestimulantes e inmunoreguladores. Debe demostrar especificidad inmunológica, modificación positiva del curso de la enfermedad y mejora la morbimortalidad. Se han estudiado diversos agentes con resultados prometedores, incluyendo la Inmunoglobulina Intravenosa, IL-7 recombinante, Anticuerpos PD1, IFN gamma, GM-CSF (Factor de crecimiento de colonias de granulocitos y macrófagos), y el Extracto Leucocitario Dializable (1-3).

La Inmunoglobulina intravenosa (IGIV) es el agente inmunomodulador más estudiado en Sepsis. Consiste en inmunoglobulinas altamente concentradas derivadas de múltiples donadores sanos. Contiene en su mayor parte IgG y según regulaciones de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA Food and Drug Administration) debe contener al menos una concentración específica de inmunoglobulinas específicas para el virus del

sarampión, *Corynebacterium diphtheriae*, poliovirus, y virus de la hepatitis B. Descontando estos requerimientos, la IGIV es muy variable de la que se han descrito múltiples mecanismos inmunomoduladores. Respecto a inmunosupresión disminuye la proliferación de linfocitos T y la producción de TNF α , IL-1 e IL-2, compete con receptores Fc desactivando fagocitosis y regula a la baja moléculas de adhesión. Las interacciones con la porción Fab y Fc de la IgG y el efecto antimicrobiano directo otorgan a la IGIV propiedades inmunoestimulantes a la par que antiinflamatorios.

A pesar de esto, los estudios clínicos han tenido resultados heterogéneos y algunas revisiones han concluido que la evidencia para su uso sistemático es aún insuficiente (4).

El Extracto Leucocitario Dializable (ELD) es un extracto derivado de linfocitos capaces de transferir información antígeno-específica de inmunidad celular de un donador inmunizado a un recipiente sin exposición. Lawrence en 1954 describió su existencia como factor de transferencia de inmunidad celular retardada y Kirkpatrick en el 2000 descubrió que las moléculas efectoras eran oligoribonucleopéptidos de menos de 10kDa (5-7). Además de la capacidad de transferencia de inmunidad celular, se han observado efectos antivirales y antibacterianos, estimulante de recuperación medular y recientemente la regulación de la producción de TNF α , IL-6 e IL-8 a través de receptores de inmunidad innata (8-14).

En modelos experimentales se ha sugerido que el ELD puede modular la activación del complejo MD2 - Receptor Toll-like 4, responsable de la vía NF κ B. Este factor de transcripción es un elemento central en señalización intramolecular implicado en múltiples fenómenos biológicos incluyendo la respuesta a la infección. El patrón citoquínico inducido por el ELD es debido a un aumento de cAMP intracelular que regula finalmente la expresión de genes que codifican moléculas proinflamatorias resultando en la disminución de TNF α de manera independiente a estímulo inicial o a la célula efectora así como aumentando IL-6 e IL-8 en monocitos. El efecto sobre el sistema fagocítico favorecería la resolución de la inflamación (15-17).

Se ha reportado su uso con resultados satisfactorios en enfermedades infecciosas y autoinmunes sin eventos adversos relevantes. Basándose en el conjunto de estos

reportes se han establecido guías de uso, con dosis y esquema correspondiente a la patología a tratar (18-20).

En México el Extracto Leucocitario Dializable se produce en la Escuela Superior de Ciencias Biológicas en el Instituto Politécnico Nacional en donde se ha demostrado una adecuada estandarización y reproducibilidad de las propiedades físicas y biológicas del Extracto Leucocitario Dializable. Se ha reportado su uso clínico en conjunto con inmunoglobulina intravenosa en el choque séptico neonatal obteniéndose el 80% de supervivencia (21-22).

2. JUSTIFICACIÓN

Dada la elevada morbimortalidad de la sepsis, el uso de inmunomoduladores constituye una opción terapéutica atractiva. Existen reportes que apoyan la utilidad del Extracto Leucocitario Dializable en pacientes pediátricos cursando con infecciones, sin embargo, no existen estudios que describan sus efectos en sepsis y choque séptico, por lo que se hace necesario conocer esos datos en centros hospitalarios que posean experiencia en su uso.

3. HIPÓTESIS

El tratamiento con Extracto Leucocitario Dializable se asocia a modificaciones clínicas y paraclínicas en los pacientes con sepsis.

4. OBJETIVOS

A) GENERAL

Conocer la experiencia en el uso del Extracto Leucocitario Dializable en la evolución clínica y estudios paraclínicos de pacientes pediátricos con diagnóstico de sepsis y choque séptico y compararlos con aquellos que no recibieron tal intervención.

B) ESPECÍFICOS

Comparar los pacientes que recibieron Extracto Leucocitario Dializable y aquellos los que no recibieron dicho tratamiento, en relación con:

1. Días de hospitalización en terapia.
2. Mortalidad en Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP).
3. Número de días de soporte hemodinámico.
4. Días de ventilación mecánica requeridos.
5. Niveles de Proteína C Reactiva (PCR) en Sangre Periférica al ingreso al servicio de UTIP
6. Niveles de PCR en Sangre Periférica posterior a las 72 horas del ingreso o de iniciado el tratamiento con ELD según corresponda.
7. Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) al ingreso al servicio de UTIP.
8. Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) posterior a las 72 horas del ingreso o de iniciado el tratamiento con ELD según corresponda.
9. Número de Neutrófilos Totales en Sangre Periférica al ingreso al servicio de UTIP
10. Número de Neutrófilos Totales en Sangre Periférica posterior a las 72 horas del ingreso o de iniciado el tratamiento con ELD según corresponda.
11. Número de Neutrófilos Totales en Sangre Periférica al ingreso al servicio de UTIP
12. Número de Linfocitos Totales en Sangre Periférica posterior a las 72 horas del ingreso o de iniciado el tratamiento con ELD según corresponda.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

a) Tipo de Estudio

Análítico, Observacional, Retrospectivo, de Casos y Controles

b) Tamaño de la muestra

Se revisarán todos los expedientes de pacientes ingresados a la UTIP en los últimos seis años.

c) Definición de caso

Expedientes de pacientes de 1 mes a 18 años de edad que se hayan hospitalizado en la UTIP con diagnóstico de sepsis y choque séptico al ingreso o durante su hospitalización y que SI hayan recibido Extracto Leucocitario Dializable.

d) Definición de grupo control

Expediente de pacientes con edad de 1 mes a 18 años, hospitalizados en la UTIP en los últimos 10 años, con diagnóstico establecido de sepsis y choque séptico y que NO hayan recibido Extracto Leucocitario Dializable

e) Criterios de inclusión

- Expedientes de pacientes con diagnóstico de sepsis y choque séptico
- Masculinos y femeninos
- Edad de 1 mes a 18 años
- Hospitalizado en la unidad de terapia intensiva pediátrica

f) Criterios de exclusión

- Expediente incompleto
- Diagnóstico de Inmunodeficiencia Primaria

g) Métodos

Se incluyeron un total de 140 expedientes de pacientes en los últimos 10 años, se excluyeron 26 expedientes por presentar datos incompletos. En total se revisaron 114 expedientes que cumplieran con los criterios de inclusión.

Posteriormente, con la ayuda de una hoja de recolección de datos se revisó cada expediente para obtener los datos descritos en los objetivos específicos.

h) Análisis estadístico

Se realizó la captura de los datos mediante una hoja de datos.

Una vez concluida la recolección de datos, se clasificaron utilizando el programa Microsoft Excel 2010.

Se utilizó el programa SPSS versión 22 para el análisis estadístico.

Las variables se dividieron para su presentación y análisis en cualitativas (ordinales, nominales), cuantitativas (discretas, continuas).

Nombre	Definición	Tipo	Escala	Valor	Fuente
Diagnóstico de sepsis	Pacientes que reporten en su expediente el diagnóstico de sepsis	Independiente cualitativa	Cualitativa ordinal	Presencia o ausencia	Expediente
Días de estancia hospitalaria en UTIP	Días que se encuentre hospitalizado en UTIP	Dependiente cuantitativa	Numérica discreta	Días	Expediente
Mortalidad en UTIP	Índice de mortalidad durante su estancia en UTIP	Dependiente Cualitativa	Cualitativa Ordinal	Sí / No	Expediente
PCR en Sangre Periférica al ingreso	PCR en sangre periférica por mg/dL	Dependiente Cuantitativa	Numérica continua	mg/dL	Expediente
VSG en Sangre Periférica al ingreso	Velocidad de Sedimentación Globular al ingreso	Dependiente Cuantitativa	Numérica continua	mm/HORA	Expediente
PCR en Sangre Periférica posterior a las 72 horas	PCR posterior a las 72 horas del tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.	Dependiente Cuantitativa	Numérica continua	mg/dL	Expediente
VSG en Sangre Periférica posterior a las 72 horas	Velocidad de Sedimentación Globular posterior a las 72 horas del tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.	Dependiente Cuantitativa	Numérica continua	mm/HORA	Expediente
Δ PCR	PCR al ingreso dividido entre PCR posterior a las 72 horas del tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.	Dependiente Cuantitativa	Numérica Continua	Índice ingreso/ PCR 72 horas	Expediente
Δ VSG	VSG al ingreso dividido entre VSG posterior a las 72 horas del	Dependiente Cuantitativa	Numérica Continua	Índice ingreso/ VSG 72 horas	Expediente

	tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.				
Necesidad de Soporte Hemodinámico	Días de uso de inotrópicos, vasopresores o vasodilatadores	Dependiente Cuantitativa	Numérica Discreta	Número de Días	Expediente
Soporte ventilatorio	Días de ventilación mecánica	Dependiente Cuantitativa	Numérica Discreta	Número de Días	Expediente
Uso de Extracto Leucocitario Dializable	Administración de Extracto Leucocitario Dializable	Independiente Cualitativa	Cualitativa Ordinal	Sí / No	Expediente
Linfocitos en Sangre Periférica Inicial	Número de linfocitos en sangre periférica por mm ³ al ingreso	Dependiente Cuantitativa	Numérica Discreta	Linfocitos por mm ³	Expediente
Neutrófilos en Sangre Periférica Inicial	Número de Neutrófilos en sangre periférica por mm ³ al ingreso	Dependiente Cuantitativa	Numérica Discreta	Neutrófilos por mm ³	Expediente
Linfocitos en Sangre Periférica posterior a las 72 horas	Número de linfocitos en sangre periférica por mm ³ posterior a las 72 horas del tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.	Dependiente Cuantitativa	Numérica Discreta	Linfocitos por mm ³	Expediente
Neutrófilos en Sangre Periférica posterior a las 72 horas	Número de Neutrófilos en sangre periférica por mm ³ posterior a las 72 horas del tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.	Dependiente Cuantitativa	Numérica Discreta	Neutrófilos por mm ³	Expediente
Índice Linfocitos/Neutrófilos al Ingreso	División entre Linfocitos y Neutrófilos al ingreso	Dependiente Cuantitativa	Numérica Continua	Índice Linfocitos/Neutrófilos	Expediente
Índice Linfocitos/Neutrófilos posterior a las 72 horas	División entre Linfocitos y Neutrófilos posterior a las 72 horas del tratamiento con	Dependiente Cuantitativa	Numérica Continua	Índice Linfocitos/Neutrófilos	Expediente

	ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.				
Δ Linfocitos	Linfocitos al ingreso dividido entre linfocitos posterior a las 72 horas del tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.	Dependiente Cuantitativa	Numérica Continua	Índice Linfocitos ingreso/ 72 horas	Expediente
Δ Neutrófilos	Neutrófilos al ingreso dividido entre neutrófilos posterior a las 72 horas del tratamiento con ELD o del ingreso a UTIP según sea el caso.	Dependiente Cuantitativa	Numérica Continua	Índice Linfocitos ingreso/ 72 horas	Expediente

Se evaluó la distribución de las variables (paramétrica o no paramétrica) para seleccionar la prueba estadística a emplear, a través de la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

En base a la distribución se realizó el análisis mediante Prueba de U de Mann Whitney y Chi cuadrada.

i) Consideraciones éticas

El presente protocolo fue diseñado observando los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos establecido en las normas de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial Helsinki, Finlandia, junio 1964 y enmendada por la 29ª Asamblea Médica Mundial Tokio, Japón, octubre 1975, la 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983, 41ª Asamblea Médica Mundial Hong Kong, Septiembre 1989, 48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996 y la 52ª Asamblea General Edimburgo, Escocia, octubre 2000.

También durante la realización del presente protocolo se observaron de manera cuidadosa las directivas de las Buenas Prácticas Clínicas de la Conferencia

Internacional de Armonización y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud de los Estados Unidos Mexicanos, en ejercicio de la facultad que confiere al Ejecutivo Federal la fracción I del Artículo 89 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y con fundamento en el Capítulo III, Artículo 34 donde se marcan las disposiciones generales de ética que deben cumplirse en toda investigación en seres humanos menores de edad.

6. RESULTADOS

Se realizó un estudio retrospectivo, de casos y controles de expedientes de pacientes con diagnóstico de sepsis en el servicio de terapia intensiva pediátrica (UTIP) durante en el periodo de enero 2009- Julio 2015. Se revisaron expedientes determinándose las variables descritas en el apartado de método. Aquellos en los cuales se utilizó el extracto dializable leucocitario se consideraron como casos, frente a los que no, que se consideraron como controles.

Las variables continuas fueron sometidas a pruebas de normalidad con el método de Kolmogorof-Smirnov. Todas las variables tuvieron una distribución no paramétrica. Las variables fueron comparadas entre casos y controles con una prueba de U de Mann-Whitney. Un valor de p de <0.05 a dos colas se consideró estadísticamente significativo.

Fueron revisados 140 expedientes clínicos de pacientes que ingresaron en la UTIP; de estos 123 cumplieron los criterios de inclusión. Los que se excluyeron fueron aquellos con registro incompleto de los datos. No hubo diferencias significativas entre grupos de controles y casos en relación a edad y sexo o comorbilidad hematooncológica. Se observó disminución en la mortalidad en el grupo ELD (Tabla1).

Tabla 1. Características de la población

	ELD (n=15)	Control (n=108)	P
Edad (meses)	82.33(±70.86)	71.6 (±60)	0.58*
Sexo			
Femenino	7 (53.3%)	60 (55.6%)	
Masculino	8 (46.7%)	48 (44.4%)	
Comorbilidad Hematooncológica	8 (53.3%)	62 (57.4%)	0.76**
Choque séptico	8 (53.3%)	83 (76.9%)	0.06**
Mortalidad	7 (46.7%)	89 (82%)	0.01 **§

ELD: Extracto Leucocitario Dializable

*T de Student **Chi cuadrada

§Estadísticamente significativo, p menor a 0.05

Respecto a los días de hospitalización y tratamiento con inotrópicos no hubo diferencias significativas entre ambos grupos, pero sí hubo diferencia significativa en los días de ventilación, con mayor tiempo para el grupo ELD (Tabla 2) (Gráfico 2)

Tabla 2. Número de Días de Hospitalización, Ventilación e Inotrópicos entre el grupo ELD y el control

	ELD (n=15)	Control (n=108)	P
Días de hospitalización	10 (1 – 126)	8 (0 – 142)	0.3*
Días de ventilación	16 (1 – 20)	5 (1 – 53)	0.01*§
Días de inotrópicos	20 (1 – 28)	5 (1 – 53)	0.1*

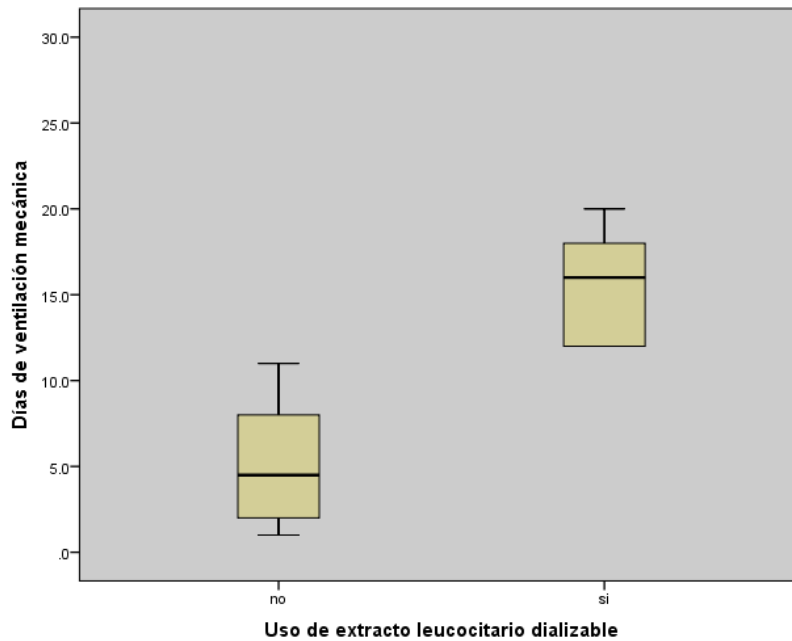
ELD: Extracto Leucocitario Dializable

UTIP: Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica

Número entre paréntesis: Rango de variables

*U de Mann Whitney §Estadísticamente significativo, p menor a 0.05

Gráfico 2. Número de Días en Ventilación Mecánica



Respecto a los niveles de proteína C reactiva hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en la PCR inicial siendo mayor en el grupo de ELD. También se halló una diferencia significativa en el Delta PCR siendo mayor en el grupo de ELD (Tabla 3) (Gráfico 4 y 5)

Tabla 3. Niveles de PCR al ingreso a UTIP, Niveles de PCR tras 72 horas de intervención o tras 72 horas de ingreso en el grupo control; y Delta PCR en el grupo ELD y el grupo control

	ELD (n=15)	Control (n=108)	P
PCR Inicial	279 (81 – 307)	87 (1 – 417)	0.001*§
PCR Final	26 (25.8 – 294)	156 (1 – 435)	0.09*
Delta PCR	3.13 (0.34 – 11.8)	0.71(0.089 – 9.7)	0.0001*§

PCR: Proteína C Reactiva

*U de Mann Whitney

§Estadísticamente significativo, p menor a 0.05

Gráfico 4. Niveles Séricos de PCR al ingreso a UTIP

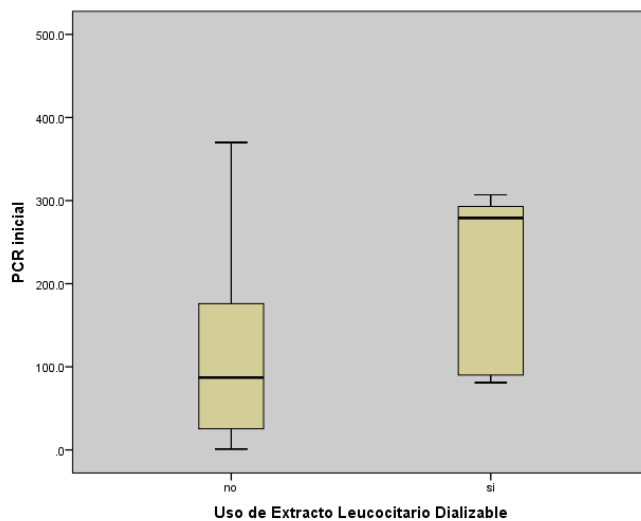
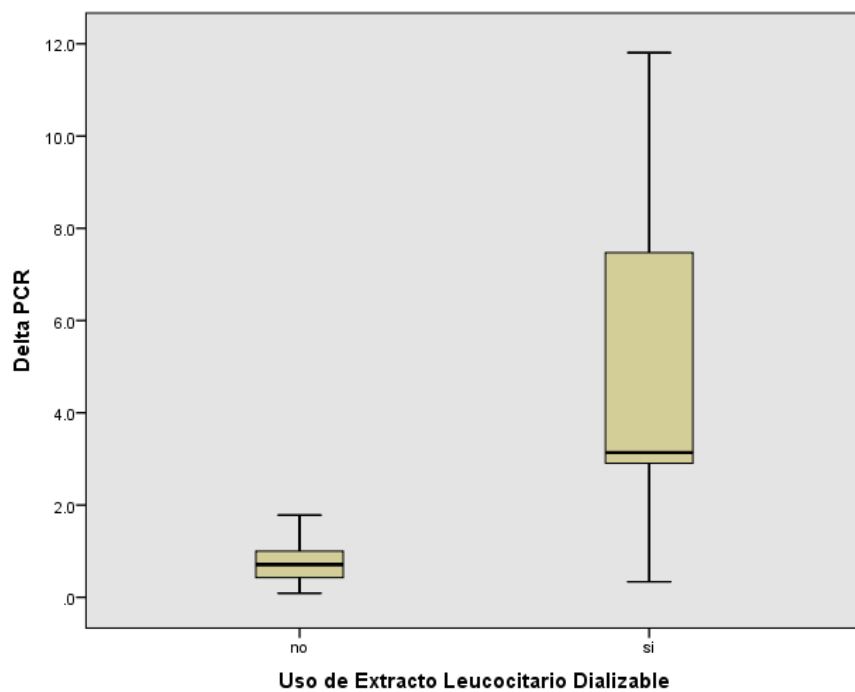


Gráfico 5. Delta PCR



Respecto a los niveles de VSG hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en la VSG inicial siendo mayor en el grupo de ELD. También se halló una diferencia significativa en el Delta VSG siendo mayor en el grupo de ELD (Tabla 4) (Gráfico 6 y 7)

Tabla 4. Niveles de VSG al ingreso a UTIP, Niveles de VSG tras 72 horas de intervención o tras 72 horas de ingreso; y Delta VSG entre el grupo ELD y el grupo control

	ELD (n=15)	Control (n=108)	P
VSG Inicial	27 (9 – 53)	17 (1 – 60)	0.021*§
VSG Final	5 (1 – 56)	30 (1 – 58)	0.3*
Delta VSG	5.4 (0.54 – 9)	0.73 (0.05– 5)	0.0001*§

*U de Mann Whitney

§Estadísticamente significativo, p menor a 0.05

Gráfico 6. VSG al ingreso a UTIP

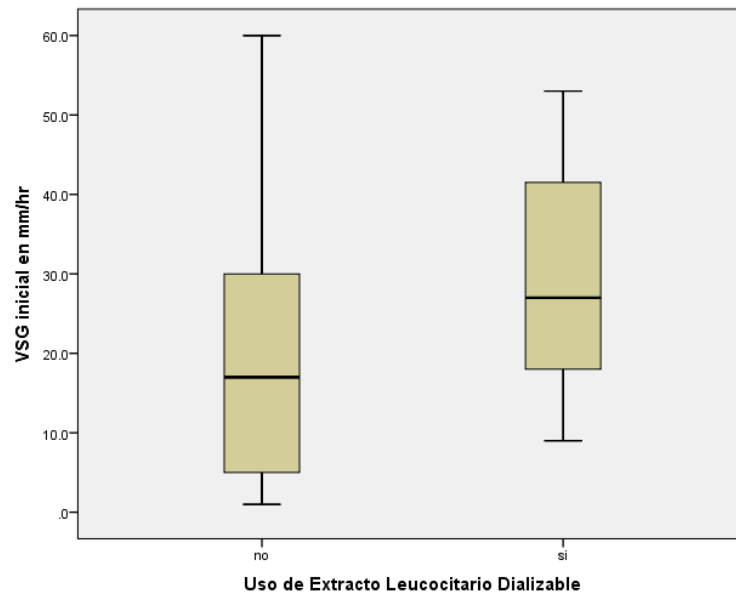
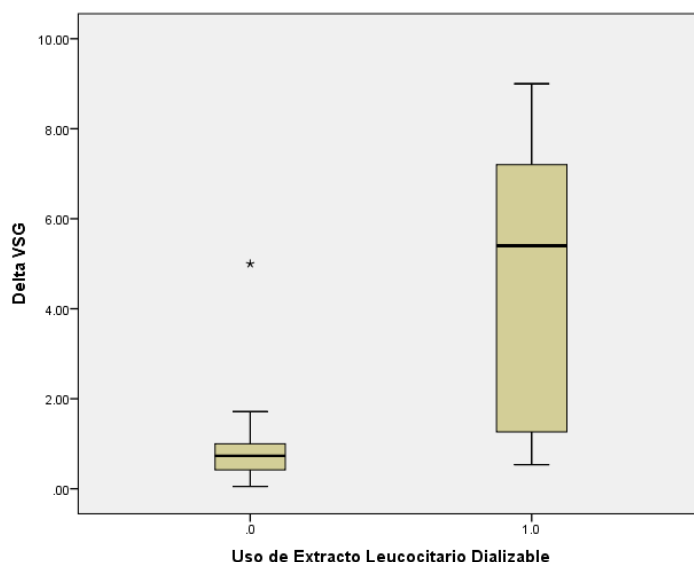


Gráfico 7. Delta VSG



Respecto al número de linfocitos, se observó diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los niveles finales y al comparar el índice linfocitos de ingreso y linfocitos tras 72 horas de intervención con ELD o ingreso en el grupo control. (Tabla 5) (Gráfico 8 y 9)

Tabla 5. Conteo de linfocitos periféricos al ingreso a UTIP, linfocitos periféricos tras 72 horas de intervención o tras 72 horas del ingreso en el grupo control; y Delta Linfocitos en el grupo ELD y el grupo control

	ELD (n=15)	Control (n=108)	P
N° de Linfocitos Inicio	1800 (50 – 3848)	1840 (20 – 17000)	0.4*
N° de Linfocitos Final	2450 (570 – 4430)	1445 (10 – 14520)	0.02*§
Delta Linfocitos	1.36(1.15 – 11.4)	0.75(0 – 3.73)	0.00001*§

*U de Mann Whitney

§Estadísticamente significativo, p menor a 0.05

Gráfico 8. Linfocitos tras 72 horas de intervención o tras 72 horas de ingreso en el grupo control

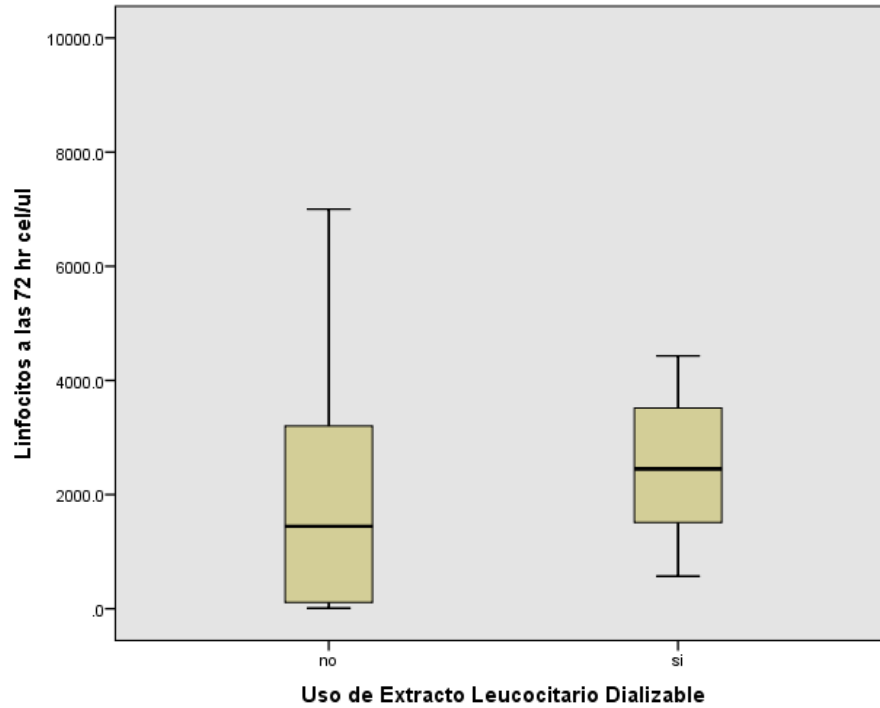
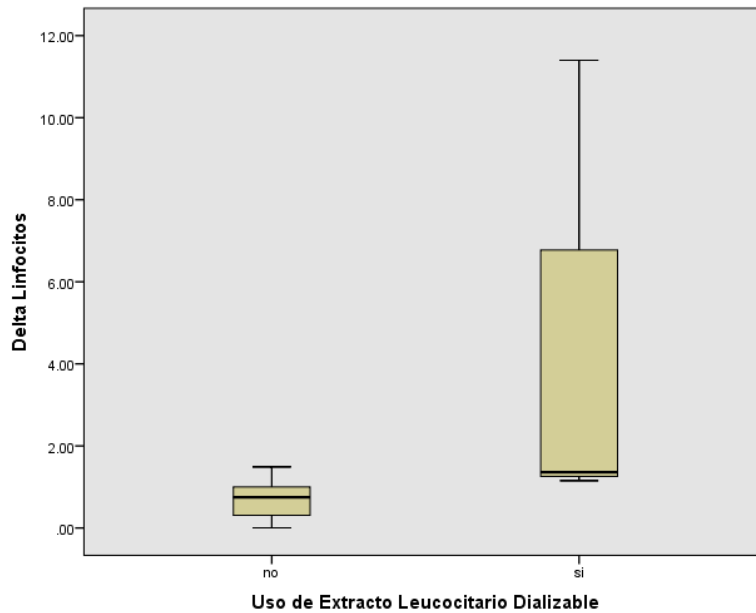


Gráfico 9. Delta Linfocitos



En relación con el número de neutrófilos hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los niveles iniciales y finales. (Tabla 6) (Gráfico 10 y 11)

Tabla 6. Conteo de neutrófilos periféricos al ingreso a UTIP, neutrófilos periféricos tras 72 horas de intervención o tras 72 horas del ingreso en el grupo control; y Delta Neutrófilos entre el grupo ELD y el grupo control

	ELD (n=15)	Control (n= 108)	P
N° de neutrófilos Inicio	16890 (4500 – 19000)	1900(20 – 21100)	0.001*§
N° de neutrófilos Final	6670 (2400 – 12020)	2100 (10 – 23000)	0.01*§
Delta Neutrófilos	1.87 (0.84 – 2.53)	1 (0.17 – 105.25)	0.05*

*U de Mann Whitney

§Estadísticamente significativo, p menor a 0.05

Gráfico 10. Neutrófilos periféricos al ingreso a UTIP

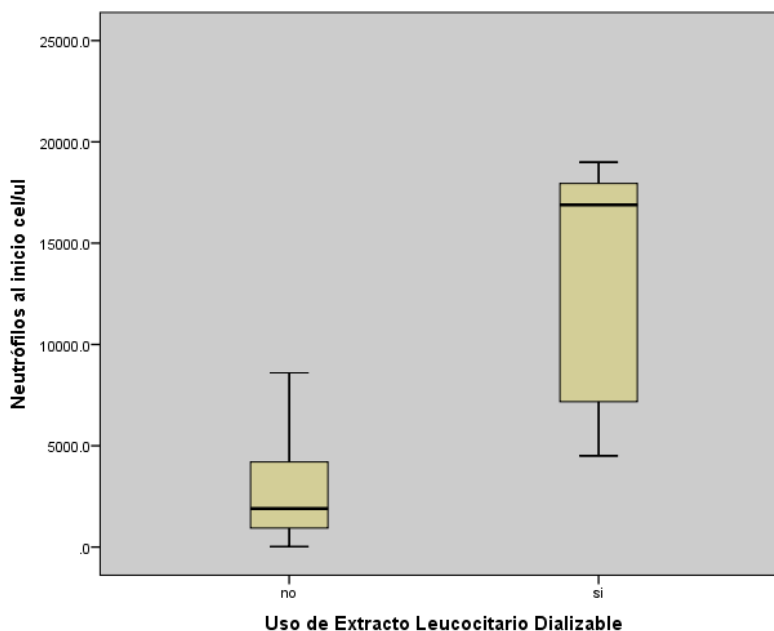
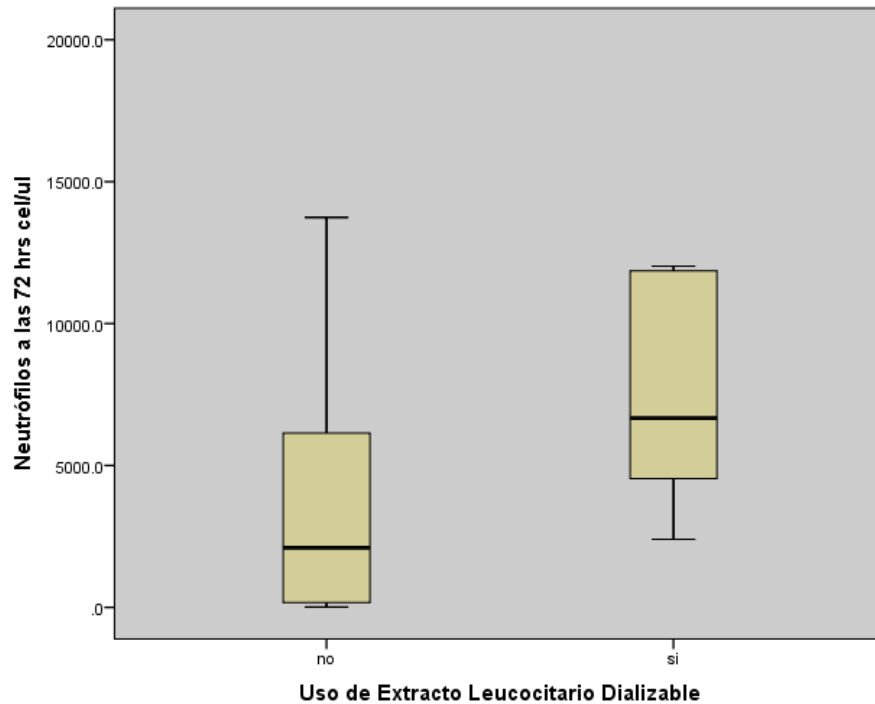


Gráfico 11. Neutrófilos tras 72 horas de intervención o tras 72 horas de ingreso en el grupo control



Respecto a la relación Linfocitos / Neutrófilos hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los niveles iniciales. (Tabla 7) (Gráfico 12)

Tabla 7. Relación Linfocitos/Neutrófilos al ingreso y Relación Linfocitos/Neutrófilos tras 72 horas de intervención o tras 72 horas de ingreso en el grupo control.

	ELD (n=15)	Control (n=108)	P
Relación Linfocitos/Neutrofilos inicial	0.22 (0 – 0.40)	0.85 (0.07 – 10)	0.001*§
Relación Linfocitos/Neutrofilos 72 hrs	0.66 (0.05 – 1.02)	0.65 (0.04 – 30)	0.17*

*U de Mann Whitney

§Estadísticamente significativo, p menor a 0.05

Gráfico 12. Relación Linfocitos/Neutrófilos al ingreso a UTIP



7. DISCUSIÓN

El presente estudio constituye la experiencia en la unidad de terapia intensiva pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, un hospital de tercer nivel de referencia nacional, con el uso del inmunomodulador denominado Factor de Transferencia o extracto leucocitario dializable. No existió diferencia estadísticamente significativa entre las características demográficas ni comorbilidades de los grupos.

Se observó diferencia estadísticamente significativa entre el grupo ELD y el grupo control en la PCR inicial (279 vs 87, $p < 0.001$), VSG inicial (27 vs 17, $p < 0,021$), neutrófilos al ingreso (16890 vs 1900, $p < 0.001$) y relación linfocitos/neutrófilos inicial (0.22 vs 0.85, $p < 0.001$). Probablemente esto sea debido a que tras la valoración inmunológica inicial se decidió el uso de inmunomoduladores en el grupo

con indicadores de inflamación sistémica muy incrementada e indicadores de peor pronóstico en el caso de la relación linfocitos/neutrófilos.

Tras 72 horas del tratamiento en el grupo ELD, vs 72 horas de ingreso en grupo control se observó diferencias significativas en el Δ PCR (3,13 vs 0,71, $p < 0.0001$), Δ VSG (5.4 vs 0.73, $p < 0.0001$). Esto pudiera interpretarse como parte del efecto inmunomodulador ya descrito por Ojeda (14) en cultivos celulares humanos, o la consecuencia esperada tras las medidas convencionales en medicina crítica que han demostrado disminución de los parámetros inflamatorios. Sin embargo, la magnitud y significancia estadística entre ambos grupos hace necesaria una mayor investigación.

Las poblaciones celulares también mostraron cambios relevantes: Δ linfocitos (1.36 vs 0.75, $p < 0.00001$), neutrófilos final (6670 vs 2100, $p < 0,01$) y linfocitos final (2450 vs 1445, $p < 0.02$). Se observó una tendencia hacia la recuperación del conteo de linfocitos periféricos y menor neutrofilia. El único estudio clínico en humanos realizado con ELD en sepsis no reporta estos cambios, aunque fue realizado en una población neonatal (22). En el caso de los linfocitos es notable que, a pesar de no haber diferencias significativas entre ambos grupos al ingreso, el grupo ELD presentó mayor número de linfocitos tras la intervención que el grupo control con un índice de cambio bastante significativo. A pesar de que estos cambios en las poblaciones celulares han sido observados tras el tratamiento convencional en sepsis, y pudieran ser efecto de un sesgo de selección de una población más grave con una respuesta dramática a las intervenciones convencionales. En contraparte a esta explicación, la menor mortalidad asociada al ELD (46.2% vs 82%. $p < 0.01$) sugiere una intervención verdadera. El aumento en el número de días de ventilación (16 vs 5, $p < 0.01$) pudiera ser una manifestación del aumento en la supervivencia.

Nuestro estudio es el primero del que tengamos conocimiento que reporta la experiencia clínica con ELD en una unidad de terapia intensiva. A pesar de contar con las limitaciones usualmente asociadas a los estudios retrospectivos y considerando el riesgo del sesgo de selección al momento de la intervención, nos muestra datos sugerentes de cambios inmunomodulatorios asociados a menor

mortalidad que ameritan ser explorados con un estudio prospectivo aleatorizado doble ciego. Debido a la necesidad de nuevos objetivos terapéuticos en sepsis y choque séptico la inmunomodulación se considera una prioridad en investigación, y nuestro estudio justifica el estudio de ELD como una opción terapéutica.

8. Bibliografía

1. Dellinger RP. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock 2012. *Crit Care Med* 2013; 41 (2):580-637
2. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2013 Dec;13(12):862-74
3. Leentjens J, Kox M. Immunotherapy for the adjunctive treatment of sepsis: from immunosuppression to immunostimulation. Time for a paradigm change? *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Jun 15;187(12):1287-93
4. Donovan S, Bearman G. Use of Intravenous Immunoglobulin in Critically Ill Patients. *Current Infectious Diseases Reports* 2014; 16-:447
5. Dwyer JM. Transfer factor in the age of molecular biology: a review. *Biotherapy* 1996;9(1-3):7-11.
6. Kirkpatrick CH. Activities and characteristics of transfer factors. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):13-6.
7. Kirkpatrick CH. Transfer factors: identification of conserved sequences in transfer factor molecules. *Mol Med.* Apr 2000; 6(4): 332–341.
8. Lawrence HS, Borkowsky W. Transfer factor--current status and future prospects. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):1-5
9. Viza D, Fudenberg HH, Palareti A, Ablashi D, De Vinci C, Pizza G. Transfer factor: an overlooked potential for the prevention and treatment of infectious diseases. *Folia Biol (Praha).* 2013;59(2):53-67

10. Vacek A, Hofer M, Barnet K, Cech K, Pekárek J, Schneiderová H. Positive effects of dialyzable leukocyte extract (DLE) on recovery of mouse haemopoiesis suppressed by ionizing radiation and on proliferation of haemopoietic progenitor cells in vitro. *Int J Immunopharmacol.* 2000 Aug;22(8):623-34.
11. Fernández O, Díaz N, Morales E, Toledo J, Hernández E, Rojas S, Madriz X, López Saura P. Effect of transfer factor on myelosuppression and related morbidity induced by chemotherapy in acute leukaemias. *Br J Haematol.* 1993 Jul;84(3):423-7.
12. Alvarez-Thull L, Kirkpatrick CH. Profiles of cytokine production in recipients of transfer factors. *Biotherapy.* 1996;9(1-3):55-9.
13. Soares MO, Welton NJ, Harrison DA. An evaluation of the feasibility, cost and value of information of a multicentre randomised controlled trial of intravenous immunoglobulin for sepsis (severe sepsis and septic shock): incorporating a systematic review, meta-analysis and value of information analysis. *Health Technology Assessment.* 2012;16(7):1-186.
14. Ojeda MO, van't Veer C, Fernández Ortega CB, Araña Rosainz MJ, Buurman WA. Dialyzable leukocyte extract differentially regulates the production of TNFalpha, IL-6, and IL-8 in bacterial component-activated leukocytes and endothelial cells. *Inflamm Res.* 2005 Feb;54(2):74-81.
15. Ojeda MO, Fernández CBO, Araña MJR. Dialysable leucocyte extract (DLE) reduces lipopolysaccharide-induced tumour necrosis factor secretion in human leukocytes. *Biotherapy* 1996; 9:163–70.
16. Kaplanski G, Marin V, Montero-Julian F, Mantovani A, Farnarier C. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol* 2003; 24:25–9.
17. Gallin JI, Kirkpatrick CH. Chemotactic activity in dialyzable transfer factor. *Proc Nat Acad Sci USA* 1974; 71: 498–502.
18. Cruz Barrios MA, Rodriguez Montiel BN. Efectos adversos asociados al tratamiento con factor de transferencia. *Rev Cubana Farm* 2006; 40(1)

19. Sanchez Gonzalez D, Sosa Luna CA, Vazquez Moctezuma I. Factores de transferencia en la terapéutica médica. *Medicina Clínica* 2011;137(6):273-277
20. Berrón-Pérez R, Chávez-Sánchez R, Estrada-García I. Indications, usage, and dosage of the transfer factor. *Rev Alerg Mex.* 2007 Jul-Aug;54(4):134-9.
21. Medina-Rivero E, Merchand-Reyes G, Pavón L, Vázquez-Leyva S, Pérez-Sánchez G, Salinas-Jazmín N, Estrada-Parra S, Velasco-Velázquez M, Pérez-Tapia SM. Batch-to-batch reproducibility of Transferon™. *J Pharm Biomed Anal.* 2014 Jan;88:289-94.
22. Rodríguez Balderrama I, Pérez Martínez P. Factor de transferencia en el choque séptico neonatal. *Revista Mexicana de Pediatría* 1999;66(6):240-246

9. Anexos:

9.1 Hoja de Recolección de Datos

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS						
Nombre :				N° de Registro		
Edad		Fecha de Nacimiento			Sexo	m
Presentó diagnóstico de:	Sepsis			Choque séptico		
Fecha de ingreso al servicio de UTIP			Fecha de egreso			
Diagnósticos de Ingreso						1
						2
						3
						4
Días de estancia en UTIP						
Defunción			Si	No		
Diagnóstico de defunción						
RECIBIO EXTRACTO LEUCOCITARIO DIALIZABLE	SI		NO			
	Número de Días					
	Dosis TOTAL					
Valores de PCR desde su ingreso hasta su egreso	Fecha	Valor	Cambio Respecto al Inicial			
Valores de VSG desde su ingreso hasta su egreso						
Valores de Linfocitos Totales desde su ingreso hasta su egreso						
	Sí	No	Agentes			

Requirió de uso de inotrópicos, vasopresores o vasodilatadores			
Días de uso de inotrópicos, vasopresores o vasodilatadores			
Requirió esquema antimicrobiano	Sí	No	Agentes
Valores de Neutrófilos Totales desde su ingreso hasta su egreso			
RECIBIO IGIV	SI	NO	
	Número de Días		
	Dosis TOTAL		