

11262  
4



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
División de Estudios de Posgrado e Investigación  
Instituto Nacional de Pediatría  
Instituto Nacional de la Nutrición, Salvador Zubirán

EFICACIA DE LA FIBRONECTINA COMO  
COADYUVANTE EN EL TRATAMIENTO DE  
NIÑOS HIPOFIBRONECTINEMICOS CON  
SEPSIS, DESNUTRICION O TRAUMA  
SEVERO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

P R E S E N T A:

DRA. NURIA FRANCISCO-REVILLA ESTIVILL

MEXICO, D. F.

283646

2000



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

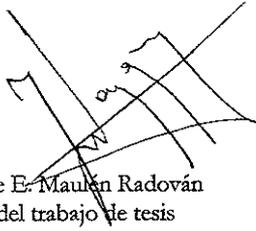
**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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.

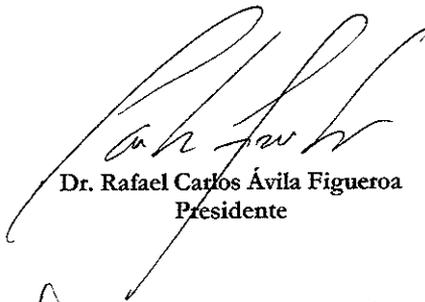
**Eficacia de la fibronectina como coadyuvante en el tratamiento de niños hipofibronectinémicos con sepsis, desnutrición o trauma severo**

HOJA DE APROBACIÓN

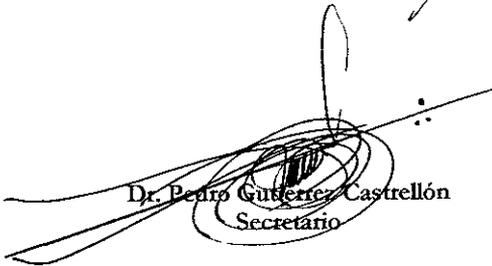


Dra. Irene E. Maulén Radován  
Tutor del trabajo de tesis

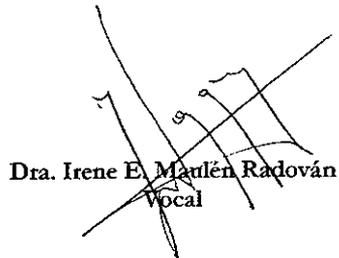
JURADO DE EVALUACIÓN



Dr. Rafael Carlos Ávila Figueroa  
Presidente



Dr. Pedro Gutiérrez Castellón  
Secretario



Dra. Irene E. Maulén Radován  
Vocal



Dr. Salvador Villalpando Hernández  
Suplente



Dra. Alessandra Carnevale Cantoni  
Suplente

---

 CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	III
INDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS	IV
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
1) MARCO TEÓRICO	
Introducción	1
Antecedentes	6
JUSTIFICACIÓN	9
OBJETIVOS	10
HIPÓTESIS	10
2) MATERIAL Y MÉTODOS	
Diseño del estudio	11
Población elegible	11
Criterios de inclusión	11
Criterios de exclusión	13
Criterios de eliminación	15
Cálculo de tamaño muestral	15
Flujograma del protocolo de estudio	16
Consentimiento escrito	17
Estratificación, aleatorización y cegado	17
Variables del estudio	17
Tratamiento experimental (Maniobra)	19
Terapéutica general (Comaniobras)	19
Criterios de suspensión del estudio	20
Análisis estadístico	20
Análisis interim	21
Consideraciones éticas	23
Métodos clínicos y de laboratorio	23
Descripción y facilidades	26
3) RESULTADOS	
Generalidades y características de los grupos	27
Respuesta al tratamiento: variables primarias	36
Respuesta al tratamiento: variables secundarias	45
Fibronectina	49
Particularidades del análisis interim	54
4) DISCUSIÓN	58
5) CONCLUSIONES	73
6) LIMITANTES DEL ESTUDIO	76
7) BIBLIOGRAFIA	77
8) ANEXOS	
ANEXO 1: Escalas de evaluación: Score de PRISM	84
ANEXO 2: Forma de consentimiento informado	85
ANEXO 3: Definición de los comités	86

---

 ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICAS

<i>Cuadros</i>	<i>Página</i>
1. Concentración de fibronectina de acuerdo a edad.	8
2. Valores de corte para definición de hipofibronectinemia	11
3. Score de trauma de Tepas	12
4. Valores de corte para diagnóstico de leucocitosis por edad.	12
5. Valores de corte de tensión arterial para diagnóstico de hipotensión significativa según edad y sexo.	13
6. Pacientes evaluados, no incluidos, según causa y diagnóstico	27
7. Variables demográficas de los pacientes al ingreso al estudio.	28
8. Variables clínicas de los pacientes al ingreso al estudio.	30
9. Criterios positivos de sepsis por grupo de tratamiento	31
10. Variables clínicas al ingreso: Signos vitales por grupo	33
11. Variables clínicas: escala de riesgo de mortalidad por grupo	33
12. Variables de laboratorio de los pacientes al ingreso al estudio.	34
13. Respuesta al tratamiento: variables primarias	36
14. Distribución de fallas terapéuticas por grupo y diagnóstico	39
15. Variables en el modelo multivariado (Regresión Logística)	40
16. Variables en el modelo de riesgos proporcionales de Cox	41
17. Respuesta al tratamiento: variables secundarias	45
18. Respuesta al tratamiento: parámetros de laboratorio	47
19. Respuesta al tratamiento: parámetros de laboratorio (cont)	48
20. Fallas terapéuticas por punto de corte de FBN inicial en 80mcg/ml	50
21. Distribución de los pacientes con eventos clínicos de graves por punto de corte de FBN inicial en 80mcg/ml	50
22. Distribución de los pacientes por grupo de tratamiento, según punto de corte de FBN al ingreso en 80mcg/ml	51
23. Distribución de los pacientes con FBN inicial <80mcg/ml por grupo de tratamiento y resultado (éxitos vs fallas)	52
24. Correlaciones significativas entre parámetros de laboratorio	53
25. Score de PRISM	84

<i>GRÁFICAS Y FIGURAS</i>	<i>Página</i>
1. Concentración de fibronectina en hemoderivados acorde a tiempo de almacenamiento.	7
2. Flujograma del protocolo de estudio	16
3. Distribución de la población por edad (intervalos de 12 meses)	29
4. Distribución de la población por edad (intervalos por grupos de edad para valores normales de FBN)	29
5. Distribución de los pacientes por estrato diagnóstico	30
6. Estado nutricional por grupo de tratamiento	32
7. Riesgo de mortalidad a la inclusión por grupo de tratamiento	34
8. Resultados por grupo de tratamiento	37
9. Probabilidad de falla por grupo de tratamiento y género según modelo de regresión	40
10. Líneas de regresión por grupo de tratamiento según modelo por riesgo de mortalidad al 5to día y nivel de fibronectina	41
11. Curvas de sobrevida por grupo de tratamiento	42
12. Curvas de sobrevida por grupo de tratamiento y punto de corte de fibronectina al ingreso en 80mcg/ml	43
13. Curvas de sobrevida por grupo de tratamiento y género	44
14. Riesgo máximo de mortalidad por estrato diagnóstico y grupo de tratamiento	45
15. Riesgo de mortalidad por grupo de tratamiento	46
16. Riesgo de mortalidad por grupo de tratamiento: inclusión vs día 5 del estudio	46
17. Fibronectina al ingreso y día 5 por grupo de tratamiento de acuerdo a resultado (éxito vs falla)	49
18. Riesgo de mortalidad a la inclusión y día 5 de acuerdo a punto de corte de FBN inicial en 80mcg/ml	51
19. Riesgo de mortalidad a la inclusión y día 5 de acuerdo a punto de corte de FBN inicial y grupo de tratamiento	52
20. Fronteras de significancia para rechazo de hipótesis nula por O'Brien-Fleming: Comparación de grupos por $X^2$	54
21. Fronteras de significancia para rechazo de hipótesis nula por función de consumo de $\alpha$ : Comparación de grupos por $X^2$	55
22. Fronteras de significancia para rechazo de hipótesis nula por función de consumo de $\alpha$ : Comparación por Kaplan Meier	55
23. Fronteras de probabilidad para hipótesis nula por potencia condicionada	56 57

---

## AGRADECIMIENTOS

El autor desea expresar su agradecimiento a la Dra. Irene Maulén Radován por la oportunidad de incursionar en el campo de la investigación así como por sus enseñanzas y a la Dra. Alessandra Carnevale Cantoni por el impulso para seguir en este camino.

Al Dr. Pedro Gutiérrez Castellón, al Dr. Juan Calva Mercado y al Ing. José Luis Pablos por su asesoría en el desarrollo y análisis del estudio.

Adicionalmente, mi agradecimiento para la Dra. Amalia Bravo, al Dr. Rolando Villicaña y para el personal involucrado tanto en el Banco de Sangre como en el laboratorio de investigación, por su comprometida participación en el desarrollo de este proyecto.

Gracias también a los miembros del jurado, a maestros y compañeros de estudios por sus valiosas contribuciones.

---

## EFICACIA DE LA FIBRONECTINA COMO COADYUVANTE EN EL TRATAMIENTO DE NIÑOS HIPOFIBRONECTINÉMICOS CON SEPSIS, DESNUTRICIÓN O TRAUMA SEVERO

### RESUMEN

**ANTECEDENTES:** El trauma y los procesos infecciosos severos son la primera causa de morbimortalidad en niños en México. La desnutrición tiene aún una muy alta prevalencia y la infección es su primera causa de letalidad. Las complicaciones de estos estados, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y sepsis, pueden evolucionar a choque séptico (CS), falla orgánica múltiple (FOM) y muerte. La deficiencia de fibronectina (FBN) se ha asociado a alteraciones del sistema retículoendotelial y mayor mortalidad. La hipofibronectinemia se ha reportado en varias patologías graves. La administración terapéutica de fibronectina ha tenido ventajas prácticas (aumento en la sobrevida, incremento en la síntesis proteica). No hay suficientes estudios clínicos controlados sobre el uso de FBN y no cubren sepsis y trauma en niños. **OBJETIVO:** Determinar la eficacia de la fibronectina como coadyuvante en el tratamiento de niños hipofibronectinémicos con sepsis, trauma o desnutrición grave. **MATERIAL Y METODOS:** Ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego, estratificado por diagnóstico, en pacientes pediátricos. Criterios de inclusión: edad mayor a 28 días, hipofibronectinemia (determinada por nefelometría) y diagnóstico de sepsis, trauma grave o desnutrición de tercer grado. Criterios de exclusión: estado de choque, FOM, otra patología crónica. **Falla terapéutica (FT):** diagnóstico de CS, FOM y/o defunción. **Maniobra:** el grupo FBN recibió albúmina humana + crioprecipitado en una relación 1:3; el grupo placebo recibió albúmina humana + solución Hartmann (1.3); ambos a dosis de 4ml/kg/día, en una dosis, por 4 días consecutivos y se les dió seguimiento hasta la FT o alta. **Análisis estadístico:** descriptivo de acuerdo a distribución muestral; inferencial para determinar diferencias en las variables primarias y secundarias entre grupos según distribución muestral. Se realizó análisis *interim* al completar el 50% de la muestra. Se realizó análisis multivariado y de Kaplan-Meier. El estudio fue aprobado por el Comité de ética del Instituto Nacional de Pediatría y se requirió consentimiento informado previo a inclusión. **RESULTADOS:** Se presenta el análisis *interim* (50% del tamaño muestral). Se incluyeron 35 pacientes, 57% niñas y 43% niños. La edad media fue de  $28.7 \pm 36$  meses en el grupo FBN y  $21.9 \pm 26.4$  en el control. 5 pacientes ingresaron por trauma, 17 por sepsis y 13 por desnutrición. Las variables de los pacientes al ingreso son similares entre grupos terapéuticos. Se registraron 6 pacientes (17.14%) con FT; 1 caso (5.6%) en el grupo FBN, y 5 (29.4%) en el grupo control ( $p=0.07$ , RR 1.34, RM 7.08); aunque no se alcanza diferencia estocástica entre los grupos, se observa diferencia de 23.8% en la probabilidad de FT, con reducción del riesgo relativo, clínicamente significativa, de 81% en el grupo FBN. En los 6 pacientes hubo 12 eventos: 3 defunciones (mortalidad global, 8.57%), 4 de CS (11.43% del total de pacientes) y 5 de FOM (14.28%). El riesgo en el grupo control es 2.26 veces mayor para defunción, 3.64 veces mayor para CS y 5.23 para FOM. 4 (66.7%) de las 6 FT se presentaron en el grupo de desnutrición y 2 (33.3%) en sepsis; no hubo FT en trauma. Por regresión logística se predice 94.3% de estos eventos,  $p=0.0003$ . Se encuentra diferencia significativa entre grupos en el análisis de sobrevida ( $p=0.05$ ). La diferencia incrementa al subdividir por nivel de FBN al ingreso ( $p=0.01$ ) y género ( $p=0.02$ ). El riesgo de FT para pacientes masculinos fue 9.5 veces mayor. **CONCLUSIONES:** Acorde a estos resultados parciales, la incidencia de hipofibronectinemia en sepsis, trauma severo y desnutrición es alta. El uso de FBN mediante crioprecipitados disminuye la FT, principalmente FOM (reducción del 76.2%), e incrementa la sobrevida. Un nivel de FBN  $\leq 80$ mcg/ml incrementa el riesgo de falla (RM 15.71). El género masculino es un factor pronóstico después del periodo neonatal. La población de mayor riesgo fue la de pacientes masculinos, con desnutrición y/o sepsis, con concentraciones plasmáticas de FBN  $\leq 80$ mcg/ml al ingreso y se propone que en ellos, la aplicación de FBN como adyuvante terapéutico puede ser eficaz.

**EFICACY OF FIBRONECTIN AS COADYUVANT IN THE TREATMENT OF HIPOFIBRONECTINEMIC CHILDREN WITH SEVERE SEPSIS, MALNUTRITION OR TRAUMA.**

**ABSTRACT**

**BACKGROUND:** Trauma and infectious diseases are the first cause of morbidity and mortality in childhood in Mexico. Malnutrition still has very high prevalence rates and infection remains its main cause of morbimortality. Their complications, sepsis and systemic inflammatory response syndrome (SIRS) can develop into septic shock (SS), multiple organ-system failure (MOSF) and death. Fibronectin (FBN) deficiency has been associated with alterations of the reticuloendothelial system and higher mortality rates. Hypofibronectinemia has been reported in several severe conditions. Therapeutic administration of FBN has had practical advantages (prolonging cumulative survival, increasing protein synthesis). There are not enough controlled clinical trials on the use of FBN and they do not cover sepsis and trauma in childhood. **OBJECTIVES:** To determine the efficacy of an adjuvant treatment with FBN in hypofibronectinemic patients with severe trauma, sepsis or malnutrition. **METHODS:** Double-blind, randomized, controlled clinical trial, in pediatric patients admitted to the National Institute of Pediatrics. Entry criteria: patients 28 days to 18 years old, hypofibronectinemia (by nephelometry) and diagnosis of severe trauma, malnutrition or sepsis. Exclusion criteria: shock, MOSF, or chronic disease. Treatment failure (TF) was defined as the presence of MOSF, SS, and/or death. We stratified according to diagnosis. **Maneuver:** FBN group received human albumin and cryoprecipitate in a 1:3 ratio; the control group, human albumin and Hartman solution (1:3). Both groups received a daily 4ml/kg/d dose, for 4 consecutive days and were followed until treatment failure or discharge. **Statistical analysis:** descriptive analysis according to sample distribution; inferential analysis to determine significative differences in the primary and secondary variables. We performed interim analysis at 50% of the calculated sample size. Kaplan-Meier survival analysis and multivariate analysis were done. The study was approved by the Ethics Committee of the National Institute of Pediatrics. Written informed consent was required prior to inclusion. **RESULTS:** We present the interim analysis (50% of the sample size). We've included 35 patients, 57% girls and 43% boys. Mean age was 28.7±36 months for the FBN group, and 21.9±26.4 for the control group. 5 patients had trauma, 17 sepsis and 13 malnourishment. Patient variables upon admission were similar for both groups. We registered 6 cases (17.14%) of TF; 1 (5.6%) in the FBN group and 5 (29.4%) in the control group ( $p=0.07$ , RR 1.34, OR 7.08); although this difference is not stochastically significant, we found a 23.8% difference in the probability of TF, with a clinically important risk reduction of 81% for the FBN group. There were 12 primary events in the 6 TF: 3 deaths (global mortality, 8.57%), 4 events of SS (11.43% of the total group) and 5 of MOSF (14.28%). The OR for the control group was 2.26:1 for death, 3.64 for SS and 5.23 for MOSF. 4 (66.7%) of the TF were found in the malnutrition strata and 2 (33.3%) in the sepsis strata; there were no TF in the trauma group. The logistic regression model predicts 94.3% of the TF,  $p=0.0003$ . We found difference between groups in the survival analysis ( $p=0.05$ ). This difference increases when dividing treatment groups by FBN level upon admission ( $p=0.01$ ) or by gender ( $p=0.02$ ). The OR for TF in male patients was 9.5. **CONCLUSIONS:** According to the preliminary results described, incidence of hypofibronectinemia in sepsis, severe malnutrition or trauma is high. FBN administration through cryoprecipitates reduces the risk for TF, mainly MOSF (risk reduction of 76.2%), and increases cumulative survival. Plasma FBN concentrations of  $\leq 80$ mcg/ml upon admission increases TF risk (OR 15.71). Male gender is a negative prognostic factor beyond the neonatal period. The highest risk group for TF was that of male, malnourished or septic patients with FBN concentrations upon admission of  $\leq 80$ mcg/ml. We suggest FBN use as treatment coadjuvant in this group of patients may be effective.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### INTRODUCCIÓN

Las patologías infecciosas y traumáticas en el paciente pediátrico constituyen la primera causa de morbimortalidad en este grupo etáreo; habitualmente surgen en niños previamente sanos y con potencial de recuperabilidad ad integrum en un porcentaje considerable. En el Instituto Nacional de Pediatría, a pesar de tratarse de un centro de atención de tercer nivel (referencia y concentración de patologías de subespecialidad pediátrica), las enfermedades infecciosas y los accidentes y violencias constituyen la primera causa de atención en el servicio de urgencias, superando el 50% de la consulta. Los traumatismos graves per sé y los procesos infecciosos severos constituyeron el 41% de la consulta de prehospitización de 1996 a 1998 (115 y 9355 casos respectivamente). (Archivos departamento de urgencias, Instituto Nacional de Pediatría). De estas patologías cabe señalar que en el paciente pediátrico:

- Los procesos infecciosos primarios y secundarios son la primera causa de muerte en los primeros 5 años de la vida y la segunda en años posteriores.
- El trauma, principalmente craneoencefálico, puede verse directamente asociado a alteraciones en la respuesta inmune celular, con anergia, linfopenia y disfunción de linfocitos T, (probablemente secundario a factores plasmáticos inmunosupresores)<sup>1</sup>. Así mismo, conforme se controlan las causas inmediatas de mortalidad (lesión tisular grave, choque hemorrágico) y se incrementa la sobrevida, se evidencian cada vez más las complicaciones mediatas y tardías (daño secundario), donde juega un papel central la sobreinfección, la respuesta inflamatoria sistémica (RIS) y la sepsis, con el desarrollo potencial de falla orgánica múltiple y muerte.

Por otro lado, la desnutrición en la infancia continúa siendo una enfermedad con tasas de prevalencia muy altas (aún a pesar de un importante subregistro), y en la cual la primera causa de morbimortalidad es la infecciosa.

En este contexto surge la necesidad de minimizar las complicaciones de estas entidades, inicialmente con el estudio de los procesos de respuesta inflamatoria sistémica (RIS) y sepsis, y con la caracterización de los fenómenos bioquímicos, fisiopatológicos y clínicos que los acompañan:

- ♦ Las manifestaciones clínicas del síndrome de respuesta inflamatoria (SRIS), secundario a sepsis o no, no son sensibles ni específicas y su magnitud no guarda una relación predictiva. La sepsis constituye la constelación de cambios biológicos que ocurren como respuesta sistémica a un evento infeccioso; describe un espectro continuo en la gravedad de la enfermedad, que va desde manifestaciones sutiles e inespecíficas hasta el choque séptico, con falla orgánica múltiple y finalmente muerte.
- ♦ La falla orgánica múltiple (FOM) tiene un comportamiento diferente en los niños y los adultos; en los primeros, se reportan frecuencias de 27% de falla de 2 o más órganos en pacientes críticos, en su vasta mayoría se reporta en las primeras 48 horas de estancia en las unidades de terapia intensiva y con una mortalidad de 50-55%<sup>2,5,6</sup>, que frecuentemente ocurre en los primeros 7 días del diagnóstico y correlaciona estrechamente con el número total de órganos afectados y los afectados simultáneamente, (mientras que la mortalidad total en adultos es mayor, correlaciona con la edad del paciente y la duración de la falla orgánica,<sup>3,4</sup> y donde el número de órganos en falla simultánea suele ser menor). Además, en el paciente pediátrico la presencia o no de sepsis con FOM no parece modificar significativamente el riesgo de mortalidad,<sup>5,6</sup> contrario a lo que sucede en adultos. Llama la atención en el paciente con falla orgánica múltiple, que ésta se presenta en forma muy temprana posterior al evento desencadenante (menos de 72 horas) y que generalmente es breve el intervalo entre el diagnóstico de FOM y la muerte (menos de 7 días); lo anterior sugeriría que la muerte es más probablemente resultado del proceso inflamatorio generado inicialmente que consecuencia de complicaciones del mismo o del manejo invasivo propio de una terapia intensiva de sostén.

Un tema que frecuentemente ha surgido en los estudios clínicos de sepsis es el razonable supuesto de un estado de falla significativa en las defensas del huésped, previo y concomitante a la identificación clínica del síndrome. Se ha descrito en diferentes estudios la depleción aguda de proteínas plasmáticas durante los eventos de respuesta al trauma o respuesta inflamatoria sistémica; dentro de este complejo de proteínas se encuentran C3 y C4, inhibidores del complemento, alfa 1 antitripsina y la fibronectina (FBN).

La fibronectina es una glucoproteína con un peso molecular de ~440KDa, compuesta de dos dímeros casi idénticos unidos por puentes disulfuro. Cada dímero o subunidad está constituida por ~2,300 aminoácidos y 5% de hidratos de carbono, e integrado por secuencias homólogas de aminoácidos de repetición, denominadas I, II y III de ~45, 60 y 90 aminoácidos respectivamente. El gen de la FBN está compuesto por más de 40 exones y 40 intrones.<sup>7-9</sup>

La FBN se encuentra ampliamente distribuida en el organismo en 2 formas;

- Soluble, que se encuentra en el plasma, líquido cefalorraquídeo, sinovial, amniótico, seminal, saliva y exudado inflamatorio. Muchas células sintetizan y secretan fibronectina, sin embargo la mayoría de la FBN circulante es producida por los hepatocitos y células endoteliales.<sup>9</sup>
- La forma insoluble es un componente de estructuras fibrilares extracelulares (constituye un componente principal de la matriz extracelular) y de las membranas basales de todos los tejidos, con la probable excepción del sistema nervioso; cumple funciones importantes de remodelación durante la embriogénesis y la cicatrización.<sup>9</sup>

La concentración plasmática en adultos varía de 300 a 600 mcg/ml, siendo mayor en el hombre (400 mcg/ml) que en la mujer (300 mcg/ml). En los recién nacidos de término y niños mayores se han registrado medias de 202 y 273 mcg/ml respectivamente, sin diferencia entre géneros. Las concentraciones en niños menores de un año han sido significativamente menores que las de los mayores de un año de edad. En el recién nacido prematuro los niveles son muy inferiores y se encuentran en correlación directa con la edad gestacional<sup>10</sup>. Las concentraciones séricas son de un 35-40% más bajas que las plasmáticas debido a la unión de la FBN a la fibrina durante la formación del coágulo<sup>10</sup>.

Se considera una fibroproteína mediadora opsonica que permite la depuración de partículas de desecho por el sistema reticuloendotelial, con funciones de activación de células T, incremento en la actividad de macrófagos, en la adhesividad de neutrófilos y en la interacción entre fagocitos y bacterias opsonizadas con anticuerpos, con la finalidad de facilitar la destrucción de las mismas. Se ha observado que inhibe la unión de *Escherichia Coli* a diversas células epiteliales y promueve indirectamente la fagocitosis al alterar la afinidad, número o distribución de los receptores para complemento, específicamente C3b,

C3bi y C1q sobre la superficie de los fagocitos. Además, juega un papel en la integridad de la pared vascular.<sup>8-14</sup>

Se ha reportado hipofibrinectinemia en condiciones de enfermedad grave, como trauma, septicemia, falla orgánica múltiple, coagulación intravascular diseminada, leucemia aguda, o desnutrición.<sup>11-13, 15-16</sup>

La hipofibrinectinemia se considera parte de la depleción de proteínas de fase aguda en pacientes sépticos o con endotoxemia<sup>16</sup>, condicionando esto un estado de "hipoalbuminemia". El mecanismo de depleción en pacientes desnutridos es desconocido, aunque se ha postulado que puede ser secundario a una reducción en la síntesis más que a un incremento en su destrucción.<sup>17</sup> En sujetos normales, la FBN se sintetiza a una velocidad de 0.71 mg/k/hr (0.61-0.87) y es rápidamente catabolizada, con una vida media de 25 horas, (velocidad de síntesis en los pacientes críticamente enfermos se ve marcadamente disminuida, mientras que el catabolismo no parece ser importantemente modificado). La deficiencia de FBN es un evento probablemente multifactorial y ha sido difícil producir un patrón similar en modelos animales que permita su estudio<sup>18</sup>, lo que consideramos de importancia ya que se le ha asociado con alteraciones del sistema reticuloendotelial, y con elevadas tasas de mortalidad<sup>11-13,15</sup>. Otros estudios en población adulta y pediátrica (principalmente neonatal) han determinado que valores bajos de fibronectina correlacionan con mal pronóstico.

En relación a otros factores, la sepsis está considerada un síndrome de exceso de mediadores, donde el daño microvascular tisular está muy probablemente relacionado a concentraciones excesivas de citocinas mediadores de inflamación (p.e. factor de necrosis tumoral (TNF), interleucinas, factor activador de plaquetas, etc.). Estudios previos<sup>19</sup> han demostrado niveles altos de interleucinas y TNF en pacientes con sepsis en comparación con controles sanos.

El TNF es una glicoproteína producida por células mononucleares posterior a la exposición a lipopolisacáridos y regulado por AMPc<sup>20-21</sup>. Entre sus funciones se encuentra el promover la marginación de neutrófilos, desencadenar las actividades antimicrobiales de monocitos, macrófagos, neutrófilos y eosinófilos; incrementa el catabolismo muscular para proporcionar aminoácidos precursores de gluconeogénesis y sustrato para la incrementada síntesis de proteínas viscerales; incrementa la proliferación vascular en sitios de lesión, la

actividad osteoclástica y la síntesis de colágena; induce la respuesta inespecífica de fase aguda<sup>22</sup>, y ha sido repetidamente implicado como una citocina proinflamatoria, central en el desarrollo del choque séptico, desencadenando una respuesta sistémica caracterizada por cambios en la termorregulación, resistencia y permeabilidad vascular (con hipotensión y vasodilatación de difícil manejo), función cardíaca (con depresión miocárdica), alteraciones en la función de médula ósea y en la actividad de enzimas clave. Así mismo, el TNF, junto con la IL-1, desencadena la producción de múltiples citocinas con funciones más especializadas, la liberación de otros mediadores y el inicio de las cascadas de cininas, coagulación y complemento<sup>23</sup>.

La IL-6 es un péptido producido por macrófagos, fibroblastos, células epiteliales y queratinocitos. Inhibe, sólo y en combinación con el TNF e IL-1, la producción hepática de albúmina, induce la producción de proteínas de fase aguda (alfa 1 antitripsina, alfa 2 macroglobulina, proteína C reactiva, fibrinógeno, transferrina, ceruloplasmina, inhibidores de complemento, etc.) en hepatocitos y actúa como factor de crecimiento de linfocitos B y T<sup>24-26</sup>; puede causar disfunción de células endoteliales y disminuye la producción endotelial de prostaciclina<sup>27-28</sup>. Su producción, relacionada con la expresión de moléculas funcionales específicas en leucocitos de sangre periférica, es estimulada entre otros por endotelina I (mediada por calcio)<sup>29</sup> en respuesta a daño endotelial, isquemia o exposición a endotoxinas<sup>30-34</sup> ésta toma varias horas y mantiene posteriormente, a diferencia del TNF e IL-1, concentraciones plasmáticas estables<sup>35</sup>, lo que permite reflejar mejor el ambiente autocrino/paracrino de efecto de las citocinas<sup>36</sup>. Los niveles de IL-6 han demostrado además correlación con puntuaciones de valoración fisiopatológicas (APACHE II)<sup>19</sup> y correlación directamente proporcional con la tasa de mortalidad<sup>37</sup>. A pesar de la correlación entre citocinas, varios estudios<sup>38-41</sup> han sugerido que las vías de producción de IL-6 y TNF/IL-1 son diferentes.

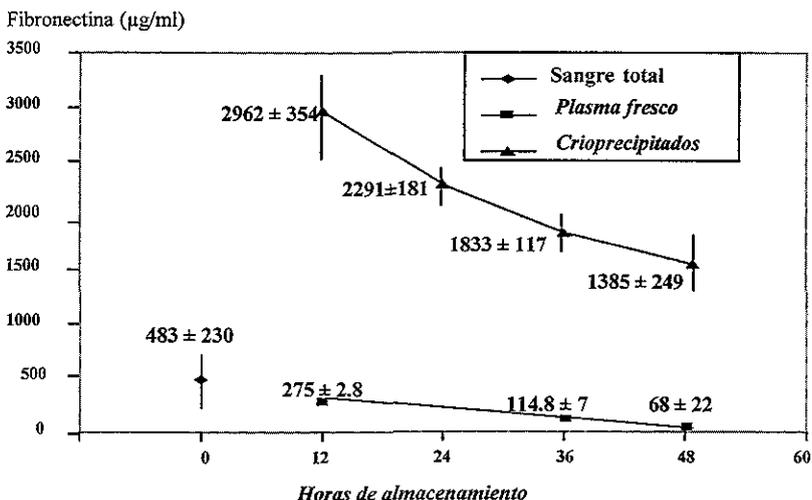
## ANTECEDENTES

Existen estudios clínicos del uso de FBN como tratamiento coadyuvante en diferentes patologías<sup>(11-15,16-18,42-43)</sup>, principalmente pacientes adultos con sepsis y/o falla orgánica; la mayoría de estos estudios fueron no controlados, y presentan resultados variables y contradictorios. En varios estudios la administración terapéutica de FBN, ha tenido ventajas prácticas como prolongar la sobrevida acumulativa en pacientes con septicemia, incrementar la síntesis de proteínas y la sobrevida de pacientes desnutridos<sup>13</sup>.

Entre los estudios realizados en pacientes pediátricos, destaca el de Sandberg<sup>13</sup> y colaboradores quienes estudian 72 niños de  $27 \pm 14$  meses de edad (rango de 8 -72 meses), con desnutrición severa y deficiencia de fibronectina, definida como niveles séricos  $<100\text{mg/l}$  independientemente de la edad. En este estudio se compararon los efectos de la aplicación de un esquema de 4 días de fibronectina en 4 grupos de pacientes (3 grupos experimentales con dosis diferentes de FBN en cada uno vs grupo control). Además de los efectos sobre proteínas (mayor incremento en albúmina, prealbúmina, transferrina,  $\alpha_2$ macroglobulina y fibronectina), se observó una supervivencia de 87% en pacientes tratados con fibronectina vs un 56% en el grupo control ( $p=0.004$ ). No se observó diferencia significativa en resultados al incrementar las dosis de fibronectina, por lo que se sugiere la menor ( $7.5 \text{ mg/kg/d}$ ), y no se reportaron efectos adversos asociados al tratamiento.

Estudios previos han utilizado los crioprecipitados como fuente de FBN con diferentes resultados, sin demostrar modificaciones en hemodinamia, metabolismo de  $\text{O}_2$ , función renal o pulmonar<sup>42</sup>. Dados los antecedentes de uso de crioprecipitados como fuente terapéutica de FBN (verificando el incremento plasmático de los niveles de la misma)<sup>12,18</sup> así como la dificultad para su aislamiento y purificación, y con el objetivo de determinar el tipo de hemoderivado con las concentraciones más altas de esta fibroproteína, se realizó un estudio prolectivo en el Banco de Sangre del Instituto Nacional de Pediatría determinando la concentración de FBN por nefelometría en sangre fresca total, plasma fresco congelado y crioprecipitado. Las concentraciones en  $\text{mcg/ml}$  ( $\bar{x} \pm \text{DS}$ ) fueron  $483 \pm 230$ ,  $111 \pm 74$ , y  $2107 \pm 682$  respectivamente ( $p < 0.001$ ). Adicionalmente se encontró que el tiempo de almacenamiento reduce las concentraciones de FBN en las unidades sanguíneas (fig. 1)<sup>43</sup>.

FIGURA 1. CONCENTRACIÓN DE FIBRONECTINA EN HEMODERIVADOS ACORDE A TIEMPO DE ALMACENAMIENTO.<sup>43</sup>



En un segundo estudio prolectivo<sup>44</sup>, se determinó la concentración de FBN en 95 niños sanos secuenciales, clasificándola por género y grupo de edad y se correlacionó con los niveles de albúmina plasmática. La FBN plasmática en  $\text{mcg/ml}$ , tuvo una distribución de normalidad, con alta variabilidad, reportándose valores en el total de la población de  $273 \pm 98 \text{ mcg/ml}$ , cifras significativamente menores a las reportadas en los adultos ( $p < 0.01$ ). Los valores de FBN por grupo de edad se describen en la tabla i; en niños menores de 6 meses de edad se observaron cifras 28% menores, con media en  $202 \pm 57 \text{ mcg/ml}$  lo cual es significativamente inferior al resto de las edades pediátricas ( $p < 0.01$ ). La reducción encontrada, consistentes con los informes de otras poblaciones, no puede ser atribuible a ninguna condición conocida que hubiese modificado la síntesis o el metabolismo de esta glucoproteína. La correlación entre albúmina y FBN fue baja ( $r$  de Pearson = 0.23, con  $r^2$  de 0.05).

TABLA 1. CONCENTRACIÓN DE FIBRONECTINA SEGUN EDAD EN PACIENTES PEDIÁTRICOS.<sup>44</sup>

EDAD (meses)	n	CONCENTRACIÓN SÉRICA DE FIBRONECTINA (mcg/ml)	INTERVALO DE CONFIANZA 95%
1-6	10	202 ± 57	161 – 243
7-12	13	216 ± 92	160 – 272
13-36	46	296 ± 108	264 – 328
37-60	21	283 ± 73	250 – 316
>60	5	273 ± 53	207 – 339

\* IC<sub>95%</sub> =  $\bar{x} \pm t_{(1-\alpha, v=n-1)}(\text{EEM})$ .

Los niveles de FBN reportados fueron similares en hombres y mujeres ( $\bar{x} \pm \text{DS}$ ) 273 ± 90 vs 268 ± 106 mcg/ml, a diferencia de lo reportado en adultos, donde las concentraciones significativamente mas altas en hombres en comparación a las mujeres adultas, probablemente sean efecto de hormonas androgénicas.

La mayoría de los estudios clínicos del uso de FBN como tratamiento coadyuvante fueron no controlados y, aunque varios de ellos presentan un potencial beneficio para los pacientes, como se mencionó previamente, el global de la literatura hasta el momento presenta resultados variables y contradictorios. Todo lo anterior hace necesario el desarrollo de ensayos clínicos controlados que permitan determinar la eficacia de este tratamiento. En el contexto del paciente con falla orgánica múltiple, parece que el tiempo de presentación no es el suficiente para permitir una terapéutica efectiva, por lo que se deben dirigir esfuerzos a terapias de “rescate” instituidas tan tempranamente como sea posible, área donde se ha sugerido pudiera tener efecto benéfico la administración de FBN. En relación a sepsis, se ha reportado que los pacientes con choque séptico son los más susceptibles a responder a inmunoterapia.<sup>45</sup>

La importancia relativa de estados comórbidos pre o coexistentes para el desarrollo de la sepsis, aunque aparente en impacto, no ha sido bien descrita. En este trabajo se valorará en una primera etapa la eficacia de fibronectina como coadyuvante terapéutico en pacientes sin patología crónica de base y acorde a resultados, la posibilidad de llevarlo a otros grupos con estados comórbidos. La mayoría de los ensayos clínicos utilizan la mortalidad como su variable primaria del estudio. En este estudio se agregan como variables de respuesta eventos

intermedios: choque séptico y falla orgánica múltiple, con el objetivo de reducir la baja especificidad, ya que la muerte puede estar determinada por estados coexistentes, y existen sesgos de interpretación en "mortalidad atribuible a sepsis". Esta conducta además ha sido apoyada para la discriminación de pacientes, en consenso de discusiones para la realización de ensayos clínicos controlados de inmunoterapia en sepsis<sup>45</sup>.

## JUSTIFICACIÓN

La sepsis y el choque séptico representan la causa más común de morbimortalidad en las unidades de terapia intensiva. En pacientes pediátricos, estos eventos, así como el desarrollo consecuente de falla orgánica múltiple, se observan frecuentemente asociados a problemas de desnutrición y de inmunodepresión secundaria. Por otro lado, el trauma y sus múltiples interacciones representan en la actualidad la primera causa de muerte en las primeras cuatro décadas de la vida. Estas patologías condicionan consecuencias a diversos niveles (biológico, social, económico) y en una importante proporción de pacientes previamente sanos y con potencial de recuperabilidad *ad integrum* considerable. Es necesario evaluar el impacto de medidas terapéuticas implementadas para disminuir la morbimortalidad asociadas a estas entidades, y en las cuales se ha propuesto un papel patogénico a la presencia de hipofibrinectinemia. Es necesario evaluar el impacto de la administración de fibronectina, orientada a corregir el papel fisiopatogénico de su deficiencia incluyendo el estado de hipoopsoninemia, así como los posibles efectos adversos.

Con estos fines se justifica la evaluación controlada de la administración de FBN como coadyuvante terapéutico en pacientes con hipofibrinectinemia asociada a septicemia, desnutrición y trauma grave para evaluar.

## OBJETIVOS

**Objetivo general:** Determinar la eficacia de la fibronectina como adyuvante en el tratamiento de niños hipofibronectinémicos con septicemia, trauma grave o desnutrición.

### Objetivos específicos:

- 1.1.- Determinar el impacto de la administración de fibronectina en la mortalidad de niños hipofibronectinémicos con desnutrición, septicemia o trauma grave.
- 1.2.- Determinar el impacto de la administración de fibronectina en la frecuencia de episodios de choque y/o falla orgánica múltiple en los grupos estudiados.

### Objetivos secundarios

- 2.1.- Determinar la correlación entre los niveles plasmáticos de fibronectina y los de interleucina 6 y factor de necrosis tumoral.

## HIPOTESIS ALTERNATIVAS

### Primarias.

- H1. La administración de fibronectina reduce la mortalidad en pacientes hipofibronectinémicos con sepsis, desnutrición o trauma grave.
- H2. La administración de fibronectina en pacientes hipofibronectinémicos con sepsis, desnutrición o trauma grave reduce el número de eventos de choque séptico.
- H3. La administración de fibronectina en pacientes hipofibronectinémicos con sepsis, desnutrición o trauma grave reduce el número de episodios de falla orgánica múltiple.

### Secundarias.

- H4. Los niveles plasmáticos de fibronectina guardan una correlación directa negativa con los niveles de interleucina 6 y factor de necrosis tumoral.

## HIPÓTESIS NULAS

- H1. La administración de fibronectina no modifica la mortalidad en pacientes hipofibronectinémicos con sepsis, desnutrición o trauma grave.
- H2. La administración de fibronectina en pacientes hipofibronectinémicos con septicemia, desnutrición o trauma grave no modifica el número de episodios de choque séptico.
- H3. La administración de fibronectina en pacientes hipofibronectinémicos con septicemia, desnutrición o trauma grave no modifica el número de episodios de falla orgánica múltiple.

## CAPÍTULO II: MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.0.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio comparativo, experimental, longitudinal, prolectivo como ensayo clínico controlado, aleatorizado, doble ciego.

### 2.1.- POBLACIÓN ELEGIBLE

Pacientes pediátricos mayores de 28 días de edad, de ambos géneros, que ingresaron al Instituto Nacional de Pediatría con diagnósticos de sepsis, trauma severo o desnutrición grave, sin otra patología crónica o de base.

### 2.2.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN

#### 2.2.1.- Edad mayor a 28 días de vida.

2.2.2.- Hipofibrinectinemia: Se definió hipofibrinectinemia por grupo de edad y acorde al primer cuartil de distribución de los resultados del estudio preliminar descrito<sup>44</sup>:

Tabla 2. Valores de corte para definición de hipofibrinectinemia por edad

EDAD	FIBRINECTINA (mcg/ml)	CUARTIL 1*	VALOR DE CORTE
1-6 meses	202 ± 57	136.5	130
7-12 meses	216 ± 92	110.2	150
13-36 meses	296 ± 108	171.8	170
37-60 meses	283 ± 73	199	190
>60 meses	273 ± 53	212	210

\*  $Q1 = (Z(DS) - \bar{X})$  donde Z de probabilidad de 2 colas  $0.25 = 1.15$

\*\* Se considera que la curva de valores de concentración sérica de fibrinectina es ascendente hasta llegar a los valores del adulto y que los valores obtenidos en este estudio para el grupo de edad de 7-12 meses es bajo debido a una dispersión alta, por lo que se ajusta el valor de corte

#### 2.2.3.- Diagnóstico de trauma severo, sepsis, o desnutrición severa: Criterios clínicos

A.- TRAUMA SEVERO: Pacientes con lesión traumática de menos de 7 días de evolución y score de trauma pediátrico de Tepas<sup>46</sup> <5 puntos:

Tabla 3. Score de Trauma de Tepas<sup>46</sup>

PARAMETRO	PUNTAJE	
Peso (kg.)	<10	-1
	10-20	+1
	>20	+2
Vía aérea	Intubado	-1
	Cánula orofaríngea	+1
	Normal	+2
Presión arterial (mmHg)	<50	-1
	50-90	+1
	>90	+2
Nivel de consciencia	Comatoso	-1
	Obnubilado	+1
	Alerta	+2
Heridas	Severas, expuestas o múltiples	-1
	Leves	+1
	Ninguna	+2
Fracturas	Severas, expuestas o múltiples	-1
	Leves	+1
	Ninguna	+2

De acuerdo a la puntuación del Score de Tepas el grado de severidad de trauma es leve, con 9 a 12 puntos, moderado, con 5 a 8 puntos, o severo, con 4 ó menos puntos.

**B.- SÍNDROME DE SEPSIS:** definido con 2 o más de los siguientes criterios mas hemocultivo positivo o infección clínica localizada en uno o varios órganos. (criterios modificados para pacientes pediátricos<sup>47</sup>)

- hipertermia: temperatura rectal o central superior a 38.3°C o hipotermia: determinación menor a 36°C en toma rectal.
- Leucopenia (cuenta leucocitaria <5000/mm<sup>3</sup>), leucocitosis (cuenta leucocitaria superior al límite para edad, -ver tabla 3-) o cuenta de bandas >10%

Tabla 4. Valores que definen leucocitosis por grupo de edad. Cifras mayores a:

EDAD	LEUCOCITOS (mm <sup>3</sup> )
1-12 meses	15,000
2-4 años	12,000
6-16 años	10,000

- ataque al estado general, apatía, hiporexia.
- taquicardia (frecuencia cardiaca por arriba de percentil 95 para la edad)
- hiperventilación (evidenciada por una frecuencia respiratoria por arriba de percentil 95 para la edad o por una
- PaCO<sub>2</sub> <30mmHg)
- trombocitopenia, con cuentas plaquetarias <100,000 plaquetas por mm<sup>3</sup>

**C.- DESNUTRICIÓN SEVERA:** Paciente con desnutrición tipo marasmática con un déficit en valores  $Z \leq -2$  de la relación peso/talla según las tablas de la NCHS<sup>48</sup> o desnutrición tipo kwashiorkor, con signos clínicos de desnutrición y edema.

### 2.3.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

#### 1.- Enfermedades crónicas, terminales y/o congénitas

**2.- Estado de choque:** Choque fué definido como la presencia de 3 o más de las siguientes alteraciones (criterios modificados para pacientes pediátricos<sup>47</sup>)

- llenado capilar mayor a 4 segundos,
- extracción tisular de oxígeno (IEO<sub>2</sub>) alterada (los valores normales de 0.26 a 0.30 en ausencia de aminos),
- diferencia arterio-venosa (Da-vO<sub>2</sub>) alterada (valores normales: 3 a 5 vol. %),
- ácido láctico sérico >6 mmol/lit (δ > 15mg/dl)
- diferencial de pulso acortada (<20mmHg)
- oliguria (diuresis horaria <0.5ml/k/hr ó <15ml/m2/hr)
- alteración del estado mental con respecto a su basal
- hipoxemia sin evidencia de enfermedad pulmonar
- PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> <250
- hipotensión arterial significativa (reducción de tensión arterial media por debajo de la percentila 5 para edad y sexo, -tabla 5-), o reducción de ≥30% de la basal en ausencia de otras causas de hipotensión y a pesar de adecuada restitución de volemia.

Tabla 5. Percentil 5 de tensión arterial sistólica y diastólica (en mm Hg), por edad, empleado para diagnóstico de hipotensión significativa

Edad	Sistólica	Diastólica
1-6 m	48	14
6-12 m	31	28
1 año	36	16
2 años	49	14
3 años	50	21
4 años	54	25
5-6 años	66	37

Edad	Sistólica	Diastólica
6-7 años	70	40
7-8 años	72	40
8-9 años	73	38
9-10 años	75	38
10-11 años	77	38
11-13 años	77	39
13-14 años	80	40

**3.- Falla orgánica múltiple (FOM):** Se definió como FOM a la presencia de disfunción de 2 o más órganos o sistemas bajo los siguientes criterios (modificados de Wilkinson)<sup>2,5</sup>:

#### Falla respiratoria:

FR >90 por minuto en <1 año ó >70 por minuto en >1 año

PaO<sub>2</sub> <40mmHg, en ausencia de cardiopatía congénita cianógena

$\text{PaCO}_2 > 65\text{mmHg}$

$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250$  en ausencia de cardiopatía congénita cianógena

Ventilación mecánica ( $>24\text{hrs}$  en pacientes postquirúrgicos)

Intubación por insuficiencia respiratoria aguda u obstrucción de vía aérea

**Falla neurológica:**

Escala de Glasgow  $< 5$

Pupilas con midriasis fija

Hipertensión intracraneana ( $>20$  Torr o que requiera intervención terapéutica) persistente ( $>20\text{min}$ )

**Falla hepática:**

Bilirrubina sérica total  $> 5$  mg/dl

Deshidrogenasa láctica ó TGO  $> 2$  veces el normal en ausencia de hemólisis

Encefalopatía grado II ó  $>$

**Falla renal:**

Creatinina  $\geq 2\text{mg/dl}$  en ausencia de enfermedad renal preexistente

BUN  $\geq 100\text{mg/dl}$  en ausencia de enfermedad renal preexistente

Diálisis

**Falla hematológica:**

Hemoglobina  $< 5\text{g}\%$

Leucocitos  $< 3000\text{mm}^3$

Plaquetas  $< 20,000\text{mm}^3$

Coagulación intravascular diseminada (TP  $>20''$ , TPT  $>60''$  y monómeros ó dímeros de Fibrina(+))

**Falla cardiovascular:**

TAM  $< 40\text{mmHg}$  en  $<1$  año ó  $< 50\text{mmHg}$  en  $>1$  año

FC  $< 50$  o  $>220$  latidos por minuto en  $<1$  año ó  $< 40$  por minuto en  $>1$  año

Asistolia (paro cardiaco)

Necesidad continua de aminas para soporte hemodinámico (para mantener gasto cardiaco y/o TA).

PH  $< 7.2$  con  $\text{PaCO}_2$  normal

**Falla gastrointestinal:**

Sangrado de tubo digestivo que requiera transfusión  $>20\text{mlkd}$

## 2.4.- CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

1.- Que se documentara cualquiera de los criterios de exclusión en las primeras 12-24 hrs de la inclusión en el estudio.

3.- Que por cualquier razón no se completara la totalidad del esquema (4 días) del tratamiento experimental

Se eliminaron del estudio aquellos pacientes en los que, secundario a la evolución de su padecimiento, presentaron complicaciones o estados que obligaron a utilizar esquemas terapéuticos diferentes de la maniobra especificada y/o del tratamiento estandarizado para cada grupo.

## 2.5.- CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se utilizaron para el cálculo del tamaño muestra los datos de mortalidad reportados por Dr. Sandberg <sup>13</sup>, quien estudia niños de  $27 \pm 14$  meses (rango de 8 -72 meses), con desnutrición severa e hipofibronectinemia. No existen reportes en la literatura acerca de estudios pediátricos relacionados con la administración de FBN en pacientes hipofibronectinémicos con trauma severo. En forma similar, no existen reportes actualmente en la literatura sobre pacientes pediátricos con hipofibronectinemia y sepsis. Si bien se pueden referir los datos de mortalidad del Dr. Lundsgaard <sup>16</sup>, quien estudio pacientes con septicemia de origen abdominal y deficiencia de fibronectina, se considera que sus conclusiones son inadecuadas para éste cálculo, ya que utiliza una población diferente (adultos), y con una muestra insuficiente. Se consideró significativa la reducción del 30% en la mortalidad en comparación con el grupo control, un factor  $\alpha$  (error tipo I) en 0.05 y un poder del 80% (factor  $\beta$  (error tipo II) en 0.2), con lo que se requirieron 34 pacientes por grupo. Si se adiciona un 20% de pérdidas al seguimiento se incluirían 40 pacientes en cada grupo. No se presentó ninguna pérdida. Se empleó la fórmula para cálculo de  $n$  basado en estudio comparativo de proporciones con los datos reportados por Sandberg:

$$n = 2 \frac{PQ (Z \alpha + Z \beta)^2}{\Delta^2} \quad Z \alpha = 1.96 \quad Z \beta = 0.84$$

Mortalidad para grupo control: 44%

Mortalidad para grupo experimental: 13%

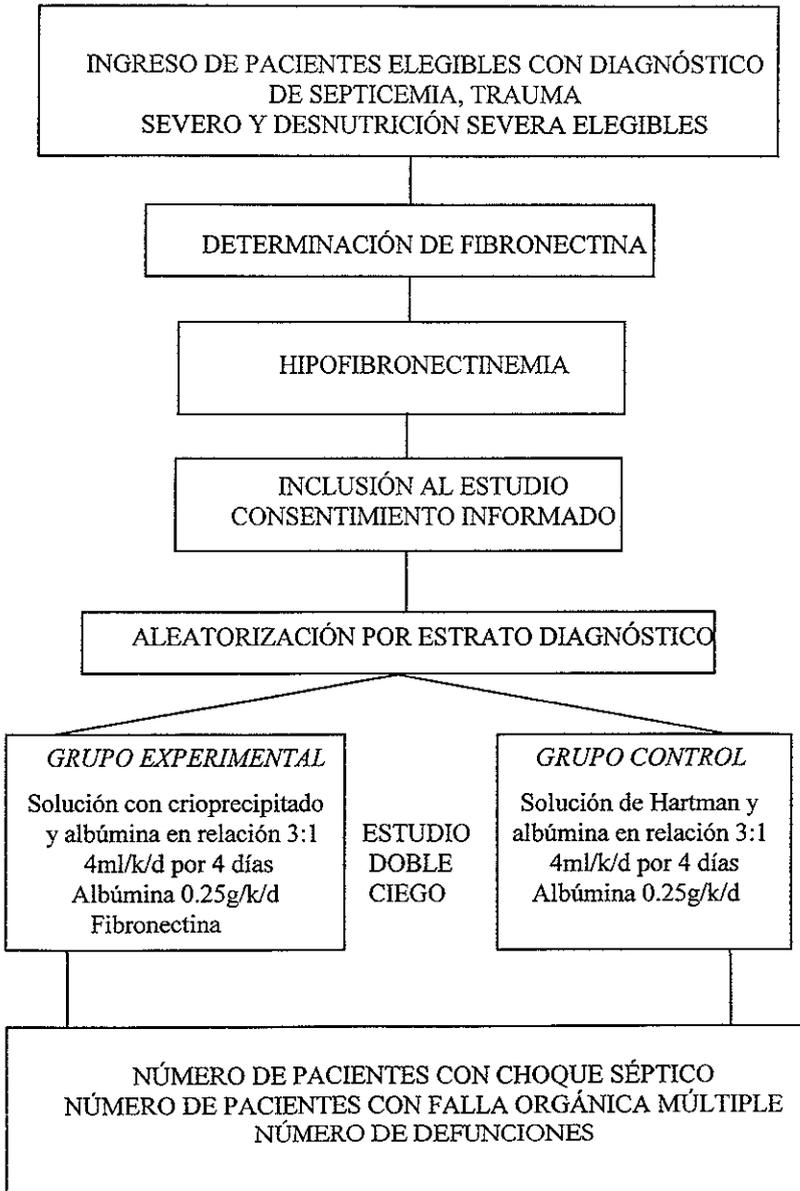
$$\Delta = \% M \text{ grupo 1} - \% M \text{ grupo 2} = 44\% - 13\% = 31\% = 0.31$$

$$P = \frac{\% \text{ grupo 1} + \% \text{ grupo 2}}{2} = \frac{44 + 13}{2} = \frac{57}{2} = 28.5 = 0.285$$

$$Q = 1 - P = 1 - 0.285 = 0.725 = 0.725$$

$$n = \frac{2PQ(Z\alpha + Z\beta)^2}{\Delta^2} = \frac{2(0.285 \times 0.725) * (1.96 + 0.84)^2}{(0.31)^2} \quad n = 34$$

## 2.6.- FLUJOGRAMA



## 2.7.- CONSENTIMIENTO ESCRITO

Se solicitó consentimiento por escrito de los padres, tutores o responsables de todos los pacientes que cumplieron criterios de inclusión (Anexo 2, Forma de consentimiento informado), como requisito indispensable para su inclusión en el estudio. La solicitud fue hecha por uno de los investigadores, previa información a los tutores.

## 2.8.- ESTRATIFICACIÓN, ALEATORIZACIÓN, PREPARACIÓN DE CEGADO

Se realizó estratificación pronóstica a priori por diagnóstico de ingreso (septicemia, trauma severo o desnutrición). En pacientes en quienes coexistieron dos de estos diagnósticos se incluyeron en los estratos acorde al diagnóstico causal o motivo de hospitalización (los pacientes que ingresaron con septicemia y presentaban desnutrición de tercer grado o grave se incluyeron como desnutrición y con estratificación en casos con y sin sepsis al análisis).

Se prepararon tres listas maestras de aleatorización (una para cada uno de los estratos diagnósticos) para estudio de 2 grupos, utilizando técnica de bloques de longitud fija en 4. La secuencia de la lista de aleatorización fue seguida como grupo FBN (experimental) o grupo C (control). Un químico del Banco de Sangre ajeno al estudio preparó las soluciones FBN y C sin conocer la lista de aleatorización.

La evaluación clínica fue efectuada sin conocer el grupo de tratamiento. Es un estudio doble ciego; el aspecto de la solución fibronectina + albúmina (experimental =FBN), y el de la albúmina + Hartman (grupo control = C) es similar y fue administrado por personal de enfermería ajeno al estudio. Se rompió el ciego al término del análisis de los resultados.

## 2.9.- VARIABLES DEL ESTUDIO.

### 2.8.1.- Datos generales

- -Edad (en meses)
- -Género
- -Lugar de procedencia
- -Ingreso familiar y porcentaje destinado a la alimentación
- -Escolaridad de los padres
- -Disponibilidad de letrina y agua potable intradomiciliaria.
- -Alimentación previa en caso de desnutrición, para evaluarla como primaria, secundaria o mixta.
- -Edad de ablactación, alimentación al seno materno
- -Número de cuadros diarreicos en los últimos 12 meses

### 2.8.2.- Variables principales o de respuesta.

- -Número de defunciones: se medirá en porcentaje por grupo
- -Número de pacientes con choque séptico. Definido como la presencia de 3 o más de las alteraciones descritas para estado de choque, en presencia de hemocultivo positivo o la presencia de un foco infeccioso clínico más síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (síndrome de sepsis definido previamente de acuerdo a criterios modificados para pacientes pediátricos<sup>51</sup>, página 13); se medirá en porcentaje por grupo.
- -Número de pacientes con falla orgánica múltiple (de acuerdo a definición operacional descrita en página 12); se medirá en porcentaje por grupo.

### 2.8.3.- Variables secundarias.

- -Escala de valoración de riesgo de mortalidad pediátrica<sup>49</sup> (PRISM) (Ver Anexo 1). La evaluación del score PRISM para predecir pronóstico en pacientes pediátricos en el departamento de urgencias ha sido validada en estudio previo<sup>50</sup>.

Aunque la escala de valoración de PRISM agrupa sus resultados en 5 grupos:

Grupo de riesgo	% de mortalidad
I	<1%
II	1-5%
III	5-15%
IV	15-30%
V	>30%

no requiere la generación de intervalos, ya que la puntuación, al ser transformada a porcentajes de riesgo de mortalidad, puede ser manejada como escala dimensional continua. Además, este valor permite controlar la variación dada por edad y status quirúrgico al incluir estos datos en su cálculo.

El porcentaje de riesgo de mortalidad se calcula como:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{\exp(r)}{1 + \exp(r)}$$

donde:  $r = (0.207 * \text{puntaje PRISM}) - (0.005 * \text{edad en meses}) - (0.433 * \text{status quirúrgico}) - 4.782$   
 donde el status quirúrgico: No quirúrgico = 0, Postquirúrgico = 1

Estudios previos han validado la correlación de esta escala de valoración con el riesgo de mortalidad por FOM<sup>6</sup>.

- -Signos vitales, Somatometría: peso (gr.), talla (cm), Z score (unidades Z) de la relación peso/talla y talla/edad
- -Tiempo de evolución de la fiebre y tiempo de evolución del trauma
- -Exámenes de Laboratorio: Hematocrito, grupo y Rh, estudio bioquímico (glucosa, BUN, creatinina, albúmina, transaminasa glutámico oxaloacética (TGO), transaminasa glutámico pirúvica (TGP)), fibrinógeno, complemento (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>), fibronectina plasmática, interleucina 6, factor de necrosis tumoral, gasometría, saturación de oxígeno

transcutánea. (Basales y día 5). Cultivo de sangre, heces, orina, faringe, y cultivo factible de sitio de infección identificado.

(Los siguientes estudios se valoraron acorde a su requerimiento para valoración de escala de PRISM y/o valoración de criterios de sepsis, choque: cuenta leucocitaria, plaquetas, coagulograma, potasio sérico, calcio, bilirrubina total, DHL).

## **2.10. - TRATAMIENTO EXPERIMENTAL (MANIOBRA)**

La solución control se preparó con solución Hartman y albúmina humana 25% a razón de 3:1.

La solución experimental se preparó con crioprecipitado y albúmina al 25% a razón de 3:1.

La maniobra se administró en una dosis cada 24 horas, por 4 días consecutivos, a razón de 4 ml/kg./día en infusión para 30 minutos. Se consideró como dosis tope la correspondiente a 133ml/d (dosis para 33kg), que equivale en el grupo experimental a la administración diaria de 10 unidades/día de crioprecipitado, dosis utilizada en estudios previos de adultos con hipofibronectinemia.

La maniobra proporcionó en ambos grupos de tratamiento una dosis de albúmina de 0.25g/kg/d, la cual no es terapéutica.

## **2.11.- TERAPÉUTICA GENERAL (COMANIOBRAS GENERALES)**

### 2.11.1. Régimen hídrico

Se inició con un régimen de nada por vía oral y líquidos IV durante un promedio de 6hrs, con soluciones a base de glucosada al 5%, sodio y potasio, para cubrir requerimientos habituales en los pacientes sin trastorno hidroelectrolítico; en caso de alteraciones se efectuaron las modificaciones pertinentes individualizadas.

### 2.11.2. Régimen antibiótico

Se inició con el esquema antibiótico para germen desconocido (según el foco clínico identificado) empleado en el Instituto Nacional de Pediatría, realizándose las modificaciones necesarias de acuerdo a respuesta clínica y resultados de cultivos y antibiogramas.

### 2.11.3. Transfusiones

Las transfusiones no fueron rutinarias. Las indicaciones de las diversas unidades de transfusión fueron las habituales del Instituto Nacional de Pediatría: Paquete eritrocitario en pacientes con Hto <30% bajo ventilación mecánica o estado crítico; concentrados plaquetarios en pacientes con sangrados y cuenta plaquetaria menor de 10,000. La necesidad de plasma y/o crioprecipitados por cualquier indicación hematológica es criterio de eliminación.

#### 2.11.4. Alimentación

Se consideró adecuado un aporte calórico en 50 cal/k/día las primeras 24 hrs, 75cal/k/día el 2° y 3er día y 100 cal/k/ día a partir del 4to día. En pacientes lactantes se proporcionó alimentación con fórmula láctea (700 cal/L) en volumen mínimo de 100 ml/k/d (a libre demanda) y/o alimentación al seno materno en pacientes no destetados, además de una dieta complementaria para cubrir la totalidad de los requerimientos calóricos. En pacientes con contraindicación para la vía enteral se administró alimentación parenteral. Los pacientes que no completaran las calorías adecuadas por vía enteral podían ser suplementados con alimentación parenteral por vena periférica.

#### **2.12.- CRITERIOS DE SUSPENSIÓN DEL ESTUDIO (MANIOBRA)**

- 1.- Falla terapéutica (definida como defunción, choque séptico ó FOM)
- 2.- Intolerancia a la administración del volumen (4ml/kg/d) y/o dosis de albúmina (0.25gr/k/d) requerido para la administración de la maniobra
- 3.- Transfusión de plasma y/o crioprecipitados por cualquier indicación distinta al protocolo.
- 4.- Necesidad de administración de cualquier inmunomodulador o inmunoterapia.
- 5.- Alta voluntaria (del estudio y/o de la Institución)

Los datos de los pacientes desde su inclusión hasta la suspensión del estudio fueron incluidos en el análisis estadístico (intención de tratar). En todos los casos de suspensión o eliminación del estudio se tomó la decisión previo a la apertura del código de tratamiento.

#### **2.13.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Se efectuó descripción de las variables mediante las medidas de tendencia central y dispersión adecuadas a la distribución muestral, con cálculo y descripción de intervalos de confianza al 95%.

Se efectuó cálculo de estadística inferencial para búsqueda de diferencias estocásticamente significativas en las variables de impacto y secundarias entre el grupo de tratamiento y el grupo control mediante análisis para 2 grupos independientes por método paramétrico o no paramétrico según la distribución muestral. Para dicho análisis se realizó estratificación de los pacientes por estrato diagnóstico, para evaluar la consistencia de los resultados entre los diferentes subgrupos. Se empleó como nivel de corte para significancia  $p \leq 0.05$  a una cola. Niveles de probabilidad  $0.05 > p > 0.1$  se considerarán como tendencia sugestiva.

Se efectuó análisis de Kaplan-Meier entre grupos. Se realizó análisis multivariado por regresión logística y riesgos proporcionales de Cox, empleando como variable dependiente el

resultado (éxito vs falla terapéutica) para la identificación de las variables independientes de mayor peso para la predicción de falla terapéutica.

El análisis se realizó bajo los paquetes SPSS versión 6.0 para Windows y epi-info versión 5.0 WHO-Geneva.

#### 2.14.- ANÁLISIS INTERIM<sup>51,52</sup>

Se realizó análisis interim, al completar el 25% y 50% del total de sujetos calculados en el tamaño muestral. Los objetivos de este análisis fueron:

- Determinar la necesidad de terminar tempranamente el estudio, por criterios éticos, si se encuentra evidencia inequívoca de beneficio o daño por parte de uno de los tratamientos.
- Determinar la conveniencia de terminar el estudio, si se tiene un poder suficiente para demostrar las hipótesis del estudio con un tamaño muestral menor.
- Determinar la necesidad de terminar prematuramente el estudio de acuerdo al análisis administrativo.

El análisis estadístico fue realizado en base a los siguientes métodos:

- ⇒ procedimiento de análisis secuencial agrupado: con límites secuenciales para mantener control del nivel de error  $\alpha$  apropiado (manteniendo un global o final en 0.05) con función de consumo de  $\alpha$  con límites asimétricos - límite negativo al 50% del positivo – y por método de O'Brien-Fleming<sup>53</sup>.
- ⇒ procedimiento de "stochastic curtailment" o potencia condicionada<sup>54,55</sup> de 2 límites o fronteras.

Para este análisis se incluyeron todos los sujetos reclutados hasta el momento del análisis; las variables a comparar fueron las variables primarias de respuesta del estudio, consideradas como grupo global y por los subgrupos definidos a priori (estrato diagnóstico); si hubiera pérdidas al seguimiento y en los casos eliminados, el análisis se realizó bajo el criterio de intención a tratar y no de análisis de eficacia.

El análisis se realizó como grupo A vs grupo B sin apertura en primera intención del código de asignación de pacientes (grupo fibronectina (FBN) o grupo placebo). Los criterios para la apertura del código y la conducta subsecuente fueron los siguientes:

##### I. Criterios estadísticos:

- A. Si durante el análisis se encontrara diferencia clínicamente importante, aunque no se alcance nivel de significancia establecido, se abriría el código SIN informar al comité investigador. Si la diferencia fuera a favor del grupo FBN, se sugeriría continuar el

estudio sin otra especificación o información. Si la diferencia fuera a favor del grupo placebo se informaría al comité investigador y se sugeriría la terminación del estudio.

B. Si durante el análisis se encontrara diferencia clínica y estadísticamente significativa, se abriría el código y se sugeriría la terminación del estudio.

## II. Criterios de seguridad:

Si durante el análisis de los datos se encontrara evidencia sugestiva de efectos colaterales de la maniobra, se abriría el código para determinar si alguno de ellos es atribuible al tratamiento.

Los criterios y lineamientos definidos para la terminación temprana del estudio fueron:

### ⇒ Consideraciones analíticas (análisis estadístico):

- \* evidencia inequívoca de beneficio o daño por parte de uno de los tratamientos: si se demostraba que en uno de los tratamientos el desarrollo de eventos falla terapéutica (choque séptico, falla orgánica múltiple y/o muerte) era significativamente menor; se definió como inequívoco si se cruzaban los límites estadísticos de significancia para un valor final de  $\alpha \leq 0.05$  (correspondientes a un valor nominal de 0.025 y 0.0125 en los análisis al 50 y 25% de la muestra respectivamente). (En el análisis secuencial agrupado el límite negativo fue del 50% del positivo).
- \* efectos adversos inaceptables
- \* falta de desarrollo de tendencias y de probabilidad razonable de demostrar beneficio: si se demostrara la ausencia de tendencias y/o de probabilidad razonable de recuperar una tendencia negativa para rechazar la hipótesis nula
- \* si hubiera tendencia positiva probabilidad por potencia condicionada  $\geq 0.80$  ó  $< 0.50$  a partir del segundo análisis de rechazar la hipótesis nula.

### ⇒ Consideraciones del progreso global del estudio (análisis administrativo):

- \* fracaso en la tasa de reclutamiento de pacientes: definida como una captura menor al 50% del tamaño muestral en un periodo de 2 años
- \* falta de recursos

### ⇒ Consideraciones de información externa:

- \* datos de la práctica médica que indicaran efectos adversos inaceptables
- \* datos de otros ensayos clínicos controlados que establecieran inequívocamente el beneficio o daño de la maniobra.

La decisión última de la terminación temprana o anticipada del estudio, principalmente asociada al segundo y tercer punto fue atribución exclusiva del comité investigador responsable. (ver Anexo 3). En caso de que el comité de monitorización de datos determinase la posibilidad de terminación por motivos éticos, esta decisión sería tomada por el comité investigador responsable en conjunto con el comité de ética de la Institución.

#### 2.15.- CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio fue aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Pediatría. Se realizó el estudio con comparación vs placebo ya que se pretende determinar la eficacia de la FBN como coadyuvante terapéutico en pacientes pediátricos hipofibronectinémicos con sepsis, trauma severo o desnutrición, y actualmente no se cuenta con tratamientos estándar validados para este fin y que pudieran ser utilizados como control; de tal manera, no se incumplían reglas de justicia, respeto o búsqueda de beneficio para el grupo control.

Para la inclusión de todos los pacientes se solicitó consentimiento informado de los padres o tutores de los menores.

#### 2.16.- MÉTODOS CLÍNICOS Y DE LABORATORIO

- PESO: Al ingreso, matutino, desnudo, en ayunas, báscula Ohaus (sensibilidad a 2gr.)
- TALLA: De ser posible por las condiciones clínicas del paciente, se determinó en bipedestación para mayores de 2 años de edad, decúbito dorsal para menores de 2 años de edad, en estadímetro.
- FRECUENCIA CARDIACA y RESPIRATORIA: Por monitorización continua con monitor Hewlett Packard
- TENSIÓN ARTERIAL MEDIA: Por medición de presión no invasiva con monitor ajustando tamaño de manguito acorde a edad y peso.
- VOLUMEN DE PULSO O DIFERENCIAL DE PULSO: Establecida como:  
TAS-TAD (Tensión arterial sistólica – diastólica) determinadas por monitor de presión no invasiva con tamaño de manguito acorde al del paciente.
- SATURACIÓN ARTERIAL O<sub>2</sub>, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, BICARBONATO: gasómetro IL 1312.
- SATURACIÓN TRANSCUTÁNEA: Oximetría de pulso
- HEMATOCRITO: Microhematocrito por centrifugación
- BIOMETRÍA HEMÁTICA: Equipo automatizado Coulter Microdiff 18
- TIEMPO DE PROTROMBINA: Por equipo automatizado fibrintimer de Behring (citrato 0.025mol)

- BUN: Equipo automatizado Microchem 565 CIBA Corning
- CREATININA: Método de Jaffé
- SODIO Y POTASIO plasmático: Por ion selectivo por equipo CIBA Cornig 644
- GLUCOSA: Equipo automatizado CIBA Corning
- TRANSAMINASAS: Método UV cinético NAD dependiente
- ALBUMINA: Por técnica de verde bromocresol
- BILIRRUBINA TOTAL: Por técnica de Jendrassik Groff o Sales de diazonio
- DESHIDROGENASA LACTICA: Por técnica de Fosfofungstato
- CALCIO: Por técnica de Arsenazo III
- ACIDO LACTICO: Método enzimático
- FIBRINÓGENO: Técnica coagulométrica
- COMPLEMENTO: Por técnica de hemólisis
- C3/C4: por nefelometría
- FIBRONECTINA: Kit Fibronectin (Behring), técnica nefelométrica.
- FACTOR DE NECROSIS TUMORAL: Kit FNT y técnica de Elisa
- IL6: Kit IL6 y técnica Elisa

Las técnicas de cuantificación de fibronectina, interleucina 6 y factor de necrosis tumoral han sido ya estandarizadas en el Instituto, con el estudio de un grupo piloto en pacientes con diarrea persistente en el Departamento de Investigación Clínica (estudio no publicado), y conllevan la realización de análisis intra e interensayo.

La medición de fibronectina en tiempo cero (inclusión) se realizó en forma inmediata, de muestra plasmática; las muestras para día 5 se toman con medio de citrato para su almacenamiento hasta procesamiento acorde a lo ya descrito en la literatura <sup>56</sup>.

La determinación cuantitativa de fibronectina se realizó *in vitro* por método de inmunoensayo turbimétrico (nefelometría) mediante kit Boehringer Mannheim (Cat. No. 401218).

Se empleó muestra de plasma (las muestras se recabaron en medios con EDTA para medición inmediata y en medio con citrato para las mediciones de 5to día). Se requirió de 0.01 ml de muestra para determinación por variante A (rango de sensibilidad 0-1000 mcg de fibronectina por cada ml. de plasma) y 0.02 ml de plasma para determinación por variante B -alta sensibilidad- (rango 0-350 mcg de fibronectina por cada ml. de plasma).

Las características del procedimiento son:

Amortiguador del antisuero: Amortiguador de fosfato, 100 mmol/l, pH 7.4;  
polietilenglicol, ca 3%, (w/v)  
detergente 0.4% (v/v)

Antisuero: anti-h-fibronectina, ca. 5-10 mg/ml  
amortiguador tris 100 mmol/l, pH 8.0

Soluciones estándar: h-fibronectina  
Amortiguador tris 100 mmol/l, pH 8.0  
Albúmina de suero bovino 1% (w/v)

Principio de medición: nefelometría de la reacción antígeno anticuerpo.

Longitud de onda: Hg 365 nm, Hg 334 nm o 340 nm

Ruta de luz: 1 cm.

Temperatura de incubación: Temperatura constante entre 25 °C.

Medición vs aire ambiente.

Metodología:

Método de punto final:

Posterior a atemperar los reactivos (soluciones estándar) y la muestra a 37°C por 10 minutos se preparan con:

Variante	Solución estándar	Muestra
A:	1.0 ml de amortiguador antisuero + solución tipo 3 <sup>a</sup> -g 0.01ml	0.01 ml + 1.0 ml de amortiguador antisuero
B:	1.0 ml de amortiguador antisuero + solución tipo 3 <sup>a</sup> -e 0.02ml	0.02 ml + 1.0 ml de amortiguador antisuero

Se realiza la mezcla de solución estándar o muestra y se realizan las primeras mediciones de la intensidad de la luz dispersa por nefelometría (A<sub>1</sub>). Se agrega 0.1 ml de antisuero y se incuba por al menos 30 minutos en el rango de las temperaturas señaladas. Se mezcla y realiza la segunda medición en el nefelómetro (A<sub>2</sub>).

Cálculos:

Se calcula la diferencia de intensidades de luz ( $\Delta A$ ) como  $\Delta A = A_1 + A_2$ .

Se traza una gráfica lineal con las concentraciones estándar (mcg/ml en las abscisas) vs. las diferencias de intensidad de la luz dispersa observadas ( $\Delta A$  en las ordenadas).

Se calcula la concentración de las muestras a partir de esta curva de calibración.

Se incluyen mediciones del estándar (curva de calibración) para cada serie de determinaciones así como dobles estimaciones tanto del estándar como de algunas muestras.

### 2.17.- DESCRIPCIÓN Y FACILIDADES

El Instituto Nacional de Pediatría de México (INP) es un hospital de alta especialidad (tercer nivel de atención, o referencia y atención de subespecialidades pediátricas), bien equipado, con programa de pediatría universitario y de subespecialidades pediátricas. El Servicio de Urgencias, lugar en donde se efectuó la investigación, cuenta con un área de Terapia con 16 lugares, 1 ó 2 de los cuales fueron destinados para el estudio. Cada lugar es un cubículo de aislamiento, con cuna térmica si se requiere y monitorización continua de signos vitales. El laboratorio de investigación ha estandarizado las técnicas de FBN, IL6 y TNF.

Los estudios bacteriológicos fueron efectuados en el laboratorio de microbiología, de alta especialidad, del propio Instituto.

### CAPÍTULO III: RESULTADOS

Se presentan los resultados del análisis realizado al 50% del tamaño muestral calculado.

#### GENERALIDADES Y CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS

Entre junio de 1997 y febrero del 2000, de los pacientes evaluados en los servicios de urgencias, gastronomía e infectología del Instituto Nacional de Pediatría, 95 pacientes fueron elegibles al cumplir los criterios clínicos de inclusión (edad y criterios de diagnóstico y gravedad). Durante el periodo de estudio, de estos 95 casos evaluados y en quienes se determinó fibronectina, se aleatorizaron únicamente 37 pacientes (51.5% del total del tamaño de muestra calculada). De los casos restantes, 43 no cumplieron criterio de hipofibronectinemia, en 5 no se obtuvo consentimiento del familiar y 10 pacientes tuvieron criterios de exclusión y/o suspensión: en 2 casos se evidenciaron patologías crónicas (1 hematológica y 1 cardiopatía congénita), en 5 casos se presentaron criterios de suspensión (necesidad de hemoderivados por CID y FOM) y se presentaron 3 defunciones previas a la aleatorización (2 pacientes con evidencia de muerte cerebral). Se eliminaron del estudio 2 pacientes aleatorizados al corroborarse que cumplían criterios de exclusión al momento de la aleatorización. En la tabla 6 se presenta la distribución de los pacientes no incluidos en el estudio de acuerdo a causa y estrato diagnóstico. La frecuencia de hipofibronectinemia en pacientes que cumplieron criterios clínicos de inclusión fue de 54.7% (52 de 95 pacientes); por estrato diagnóstico fue de 40% (8 de 20 pacientes) en el estrato de trauma, 58.8% en el estrato de sepsis (30 casos de 51) y 58.3% en el estrato de desnutrición (14 de 24 pacientes).

Tabla 6. Distribución de los pacientes no incluidos según causa y diagnóstico. Datos expresados en número de casos (%).

	Trauma	Sepsis	Desnutrición	Total
Pacientes elegibles por clínica	20	51	24	95
Pacientes no incluidos	15	34	11	60
Sin hipofibronectinemia*	12	21	10	43
Consentimiento**	1	4	0	5
Exclusión***	2	9	1	12
Pacientes incluidos	5 (25%)	17 (33.3%)	13 (54.17%)	35 (36.8%)

\* Pacientes que cumplieron criterios clínicos de inclusión pero no cumplieron criterio de hipofibronectinemia

\*\* Pacientes en quienes no se obtuvo consentimiento del familiar

\*\*\* Pacientes en quienes se corroboró criterio de exclusión

De los 35 pacientes incluidos, 18 pacientes fueron asignados al grupo experimental de fibronectina (FBN) y 17 al grupo control (C). El código de asignación de grupo fibronectina o control fue abierto al terminar el análisis interim, al completar el 50% de la muestra.

Durante el estudio se suspendió el protocolo en 3 pacientes, 2 correspondientes al grupo experimental y 1 al grupo control. En los 3 casos el criterio de suspensión fue la administración de hemoderivados (crioprecipitados y plasma por coagulación intravascular diseminada y tiempos de coagulación prolongados con evidencia de sangrado) y/o inmunomoduladores (gamaglobulina en 1 paciente con enfermedad de Kawasaki, grupo experimental, y un paciente con tifoidea con afección multiorgánica y falta de respuesta a tratamiento, grupo control). El análisis estadístico fue realizado bajo criterio de intención a tratar (con inclusión de los datos al análisis). No se presentaron pérdidas al seguimiento, contándose con la información de todos los pacientes hasta su egreso hospitalario o muerte.

Se presentan las características generales de los pacientes al ingreso al estudio por grupo.

Tabla 7. Variables demográficas de los pacientes al ingreso al estudio.

	Fibronectina n= 18	Control N= 17	p†
Edad (meses) *	28.72 ± 35.97 (14.5)	21.88 ± 26.43 (12)	0.84 <sup>c</sup>
Género**			
Femenino	11 (61.1%)	9 (52.9%)	0.63 <sup>b</sup>
Masculino	7 (38.9%)	8 (47.1%)	
Ingreso familiar mensual (\$)*	1005.6 ± 298.8 (1000)	1336.5 ± 674.6 (1200)	0.24 <sup>c</sup>
Escolaridad paterna **			0.13 <sup>b</sup>
Analfabeta	5 (27.8%)	1 (5.9%)	
Lee/escrbe	0	0	
Primaria	6 (33.3%)	8 (47.1%)	
Secundaria	3 (16.7%)	5 (29.4%)	
Bachillerato o mayor	1 (5.6%)	3 (17.6%)	
Se ignora	3 (16.7%)	0	
Escolaridad materna **			0.06 <sup>b</sup>
Analfabeta	2 (11.1%)	2 (11.8%)	
Lee/escrbe	2 (11.1%)	0	
Primaria	10 (55.6%)	4 (23.5%)	
Secundaria	4 (22.2%)	8 (47.1%)	
Bachillerato o mayor	0	3 (17.6%)	
Se ignora	0	0	

† b = Análisis por X<sup>2</sup>, Fisher

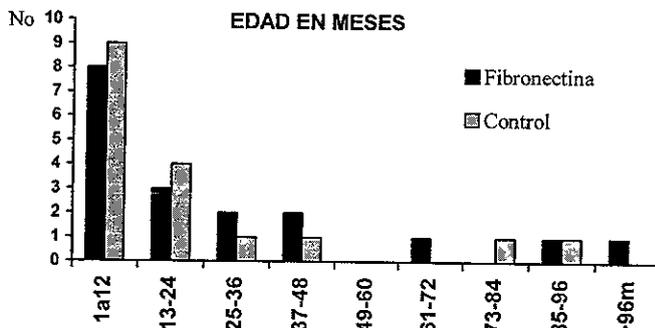
c = Análisis por pruebas no paramétricas

\* Datos expresados en media ± DS (mediana)

\*\* Datos expresados en número de casos (%)

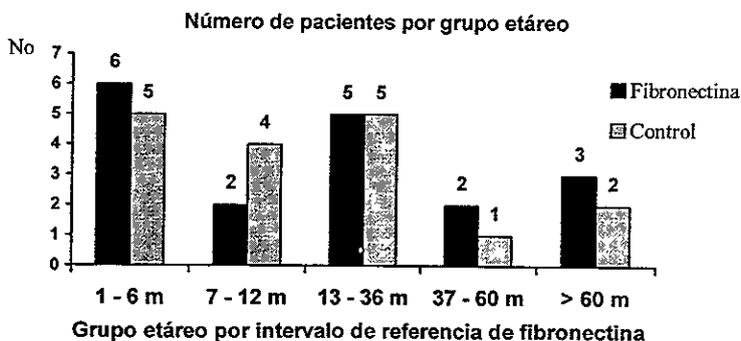
La edad promedio de los pacientes fue de  $28.72 \pm 35.97$  (1-134) meses para el grupo FBN y de  $21.88 \pm 26.43$  (1-92) meses para el grupo C, con medianas en 14.5 y 12 respectivamente, por un sesgo a la izquierda en la distribución (figura 3).

Figura 3. EDAD: Distribución de la población en intervalos de 12 meses



Al analizar la distribución por grupos de edad de acuerdo a los intervalos establecidos por los valores de referencia de fibronectina<sup>44</sup>, la distribución tiende más a una curva normal. (figura 4).

Figura 4. EDAD: Número de pacientes por grupo etáreo de acuerdo a los intervalos de edad establecidos por los puntos de corte de fibronectina.



En relación a las características clínicas de los pacientes al ingreso, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento (tabla 8).

Tabla 8. Variables clínicas de los pacientes al ingreso al estudio

	Fibronectina n= 18	Control n= 17	P†
Evolución previa al ingreso (días)*	18.1 ± 34 (5)	24.3 ± 65.2 (6)	0.76 <sup>c</sup>
Fiebre previo a ingreso (días)*	6.3 ± 8.9 (3)	6.2 ± 29.3 (4)	0.52 <sup>c</sup>
Diagnóstico**			
Trauma	3 (16.7%)	2 (11.8%)	1.0 <sup>b</sup>
Sepsis	8 (44.4%)	9 (52.9%)	
Desnutrición	2 (11.1%)	1 (5.9%)	
Desnutrición + Sepsis	5 (27.8%)	5 (29.4%)	
z Peso/Talla *	-1.5 ± 1.8 (-1.5)	-1.8 ± 1.8 (-1.4)	0.87 <sup>c</sup>
z Talla/Edad *	-2.4 ± 1.5 (-2.3)	-1.4 ± 1.7 (-2.1)	0.16 <sup>c</sup>
Estado nutricional**			
Normal	8 (44.4%)	10 (58.8%)	0.88 <sup>b</sup>
DNT ‡ primaria	2 (11.1%)	2 (11.8%)	
DNT secundaria	0	0	
DNT mixta	4 (22.2%)	3 (17.6%)	
DNT tipo Kwashiorkor	4 (22.2%)	2 (11.8%)	

† b = Análisis por X<sup>2</sup>, Fisher; c = Análisis por pruebas no paramétricas

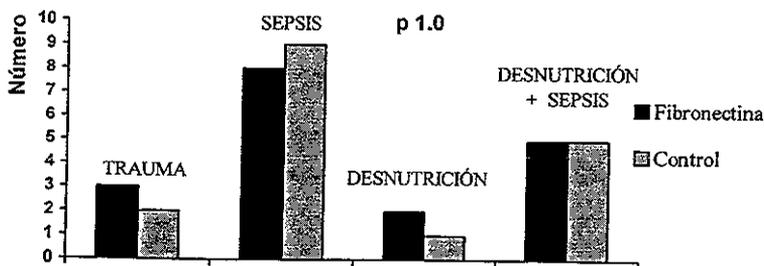
‡ DNT = Desnutrición

\* Datos expresados en media ± DS (mediana) \*\* Datos expresados en número de casos(%)

La mediana de tiempo de evolución del padecimiento previo al ingreso fue de 5 días para el grupo de FBN (0-140) y de 6 para el grupo control (1-275). Para los pacientes con diagnóstico de ingreso de trauma la evolución previa al ingreso fue de  $0.67 \pm 0.58$  días para el grupo de FBN (0-1) y de 1 día para el grupo control.

La distribución de los pacientes por estrato de diagnóstico y grupo de tratamiento se presentan en la figura 5. Los pacientes en quienes al momento de ingreso coincidieron los diagnóstico de desnutrición y de sepsis fueron aleatorizados dentro del estrato de desnutrición y analizados en forma independiente.

Figura 5. Distribución de los pacientes por estrato diagnóstico al ingreso



Eficacia de la fibronectina como coadyuvante en el tratamiento de niños hipofibrinogénicos con sepsis, desnutrición o trauma severo

En los pacientes con diagnóstico de trauma severo el Score de Tepas fue de  $2.33 \pm 1.15$  (mediana 3) para el grupo FBN y de  $0 \pm 1.41$  (mediana 0) para el grupo control ( $p=0.30$ ).

Para el estrato de sepsis, el número de criterios positivos para el diagnóstico fue de  $4.75 \pm 1.28$  (mediana 4.5) para el grupo FBN y de  $4 \pm 1.12$  (mediana 4) para el grupo control ( $p=0.75$ ) (tabla 9).

Tabla 9. Criterios de sepsis positivos por grupo de tratamiento. (Número de casos (%))

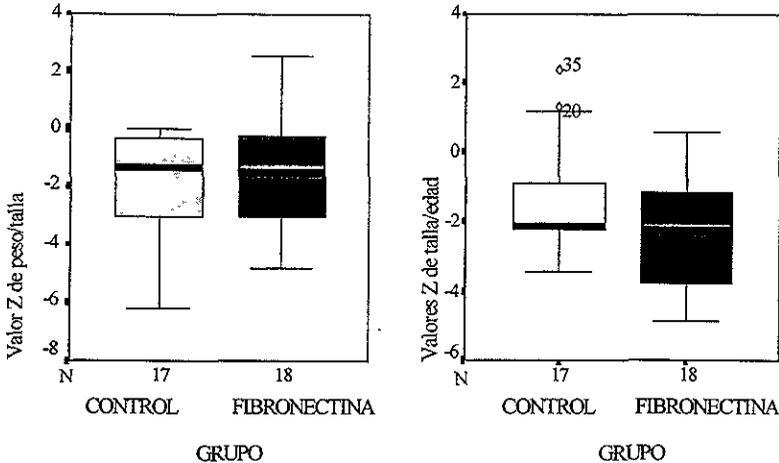
Criterio de sepsis	Fibronectina n=8	Control n=9	P (Fisher)
Hipotermia o hipertermia	8 (100%)	6 (66.7%)	0.21
Leucopenia, leucocitosis o bandemia	5 (62.5%)	6 (66.7%)	1
Taquicardia	3 (37.5%)	1 (11.1%)	0.29
Taquipnea	7 (87.5%)	7 (77.8%)	1
Hipocapnia	6 (75%)	6 (66.7%)	1
Plaquetopenia	1 (12.5%)	1 (11.1%)	1
Ataque al estado general	8 (100%)	9 (100%)	1
Foco infeccioso documentado	8 (100%)	9 (100%)	1

En el estrato de desnutrición, los valores Z de peso para talla al momento de la inclusión fueron de  $-3.03 \pm 1.16$  (mediana  $-3.04$ , intervalo  $-4.8$  a  $-1.44$ ) en grupo FBN y de  $-3.76 \pm 1.25$  (mediana  $-3.3$ , intervalo  $-6.2$  a  $-3$ ) en el grupo control ( $t=1.08$ ,  $p=0.30$ ). Los rangos incluyen pacientes con valores Z mayores a  $-2$  debido a que estos valores incluyen los datos de los pacientes con diagnóstico de desnutrición tipo Kwashiorkor (4 para el grupo FBN, 2 en el grupo control), en quienes el peso al ingreso se ve falsamente elevado por el edema propio de la patología. Al eliminar del análisis los pacientes con diagnóstico de Kwashiorkor los valores Z de peso/talla fueron de  $-3.78 \pm 0.9$  (mediana  $-3.55$ , rango  $-4.8$  a  $-3$ ) para grupo FBN y de  $-4.1 \pm 1.45$  (mediana  $-3.57$ , rango  $-6.24$  a  $-3$ ) para el grupo control. En relación a la distribución de pacientes con desnutrición tipo Kwashiorkor, esta fue mayor en el grupo FBN (22.2% vs 11.8% del grupo total de tratamiento ó 57.1% vs 33.3% por estrato diagnóstico).

En el estado nutricional de la población global del estudio, no hubo diferencia significativa entre las medianas de ambos grupos para la relación peso/talla. La media para la relación talla/edad es menor para el grupo FBN que para el control, y las medianas son similares, ambas por debajo de los 2 valores Z. En ambos grupos el estado nutricional promedio tiene déficit en ambos parámetros, sin embargo este efecto es debido al sesgo a la izquierda dado por los pacientes del estrato de desnutrición. Al excluir del análisis los pacientes del estrato de desnutrición, los valores Z de peso/talla fueron de  $-0.5 \pm 1.35$  (mediana  $-0.8$ ) para el grupo

FBN y de  $-0.7 \pm 0.64$  (mediana  $-1$ ) para el grupo control. Para la relación talla/edad los valores Z fueron de  $-1.8 \pm 1.2$  (mediana  $-1.7$ ) para el grupo FBN y de  $-1.1 \pm 1.5$  (mediana  $-1.4$ ) para el grupo control. En la figura 6 se muestra la distribución por grupo de las relaciones peso/talla y talla/edad para la totalidad de la población.

Figura 6. Estado nutricional: comparación de valores Z: peso para talla y talla para edad



En relación a los signos vitales registrados al momento de la inclusión, al analizarlos en forma independiente, en más del 50% de los casos el valor reportado para frecuencia cardiaca, tensión arterial o temperatura se encontró dentro de los parámetros de referencia para la edad. El parámetro clínico más frecuentemente reportado fuera de los valores de referencia para la edad fue la frecuencia respiratoria. Se reportó taquicardia en 6 casos del grupo FBN (33.3%) y 2 casos en el grupo control (11.8%). En los pacientes con sepsis predominó la polipnea y las distermias (75 y 55% para los grupos FBN y control respectivamente) mientras que en el grupo de desnutrición no se encuentran pacientes con fiebre, y sí con hipotermia. Se reportaron valores de criterio de gravedad únicamente en 3 pacientes para bradicardia (2 casos grupo FBN (11.1%) y 1 caso grupo control (5.9%)) y 2 casos para hipotensión (1 caso por grupo) (Tabla 10).

Tabla 10. Variables clínicas: signos vitales de la población al ingreso al estudio. (Los datos se presentan en número de casos (%)).

Parámetro clínico		Fibronectina n= 18	Control n= 17	P*
Percentilas de Frecuencia Cardiaca	<3	2 (11.1%)	1 (5.9%)	0.32
	3-97	10 (55.6%)	14 (82.4%)	
	>97	6 (33.3%)	2 (11.8%)	
Frecuencia Respiratoria	Bradipnea	0	0	1.0
	$\bar{x} \pm 2DS$	7 (38.9%)	7 (41.2%)	
	Taquipnea	11 (61.1%)	10 (58.8%)	
Percentilas de T/A media	<3	1 (5.6%)	1 (5.9%)	0.66
	3-97	16 (88.9%)	13 (76.5%)	
	>97	1 (5.6%)	3 (17.6%)	
Temperatura	Hipotermia	4 (22.2%)	3 (17.6%)	1.0
	Normal	10 (55.6%)	11 (64.7%)	
	Fiebre	4 (22.2%)	3 (17.6%)	

\*Análisis por prueba de  $\chi^2$ , Fisher

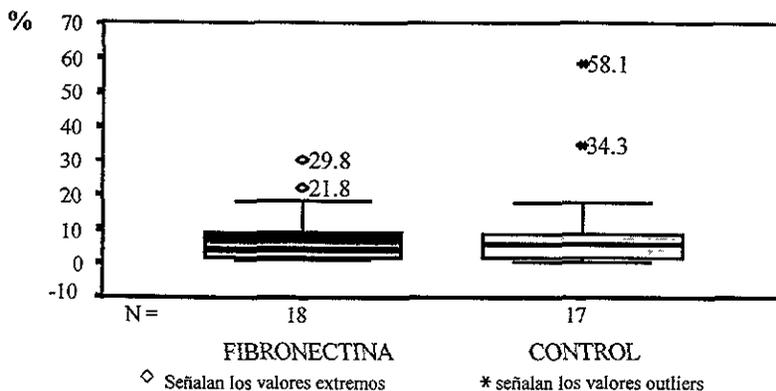
No se encontró diferencia estadística entre los grupos de tratamiento en los puntajes de la escala de valoración de riesgo de mortalidad pediátrica (PRISM) medidas al ingreso y al momento de la inclusión. Las diferencias de puntuación entre ambos tiempos es atribuible a las medidas iniciales de reanimación en el paciente crítico. Existe una amplia dispersión en cuanto al riesgo de mortalidad por la presencia de valores extremos en ambos grupos. (Tabla 11, figura 7)

Tabla 11. Variables clínicas: escala de valoración de riesgo de mortalidad pediátrica (PRISM) al ingreso y a la inclusión al estudio. Los valores se expresan en  $\bar{x} \pm DS$  (mediana) y (rango).

Escala de valoración de riesgo de mortalidad	Fibronectina n= 18	Control n= 17	P*
PRISM al ingreso (puntuación)	11.56 $\pm$ 5 (12) (3 – 21)	12.24 $\pm$ 6.9 (13) (0-24)	0.74 <sup>a</sup>
<i>Riesgo de mortalidad (porcentaje)</i>	10.1 $\pm$ 9.9 (8.1) (1.3 – 39.1)	13.84 $\pm$ 14.9 (6.1) (0 – 54.51)	0.75 <sup>c</sup>
PRISM a la inclusión (puntuación)	8.78 $\pm$ 5.5 (7.5) (2 – 19)	9 $\pm$ 7.6 (10) (0 – 29)	0.92 <sup>a</sup>
<i>Riesgo de mortalidad (porcentaje)</i>	7.1 $\pm$ 8.2 (3.7) (0.74 – 29.86)	9.4 $\pm$ 15.1 (5.2) (0 – 58.13)	0.84 <sup>c</sup>

\* a = Análisis por pruebas paramétricas c = Análisis por pruebas no paramétricas

Figura 7. Porcentaje de riesgo de mortalidad (inclusión al estudio) por grupo de tratamiento.



Los valores basales de los parámetros paraclínicos al ingreso se muestran resumidos en la tabla 12.

Tabla 12. Variables de laboratorio de la población al ingreso al estudio.  $\bar{x} \pm DS$  (Mediana)

	Fibronectina N= 18	Control n= 17	P*
Hematocrito, en %	32.2 $\pm$ 8.6 (31.1)	30.4 $\pm$ 7.2 (31)	0.52 <sup>a</sup>
Glucosa, en mg/dl	103.4 $\pm$ 45 (89)	109.8 $\pm$ 72.2 (85)	0.91 <sup>c</sup>
BUN, en mg/dl	10.8 $\pm$ 8.2 (7.75)	8.95 $\pm$ 16.5 (4.67)	0.01 <sup>c</sup>
Creatinina, en mg/dl	0.54 $\pm$ 0.22 (0.5)	0.55 $\pm$ 0.66 (0.39)	0.04 <sup>c</sup>
Calcio, en mg/dl	8.2 $\pm$ 1.2 (8.3)	8.6 $\pm$ 1.6 (8.44)	0.39 <sup>a</sup>
Potasio, en mEq/l	4.2 $\pm$ 1.1 (4.25)	4.6 $\pm$ 0.9 (4.5)	0.28 <sup>a</sup>
Bilirrubina total, en mg/dl	1.03 $\pm$ 1.23 (0.74)	1.49 $\pm$ 2.25 (0.7)	0.70 <sup>c</sup>
Albúmina, en g/dl	2.4 $\pm$ 0.86 (2.6)	2.9 $\pm$ 0.55 (2.9)	0.06 <sup>a</sup>
TGO, en mU/ml	51.7 $\pm$ 35.3 (42.5)	92.1 $\pm$ 137.5 (60)	0.54 <sup>c</sup>
TGP, en mU/ml	54.7 $\pm$ 47.5 (36)	58.4 $\pm$ 63.7 (32)	0.98 <sup>c</sup>
T. protrombina, %control	76.4 $\pm$ 21.5 (81)	74.4 $\pm$ 22.6 (75)	0.78 <sup>a</sup>
Fibrinógeno, en mg/dl	224.9 $\pm$ 109.6 (211.5)	224.8 $\pm$ 149 (175)	0.69 <sup>c</sup>
Complemento, en U/ml	116.4 $\pm$ 57.9 (124)	138.7 $\pm$ 42 (134)	0.20 <sup>a</sup>
Fibronectina, en mcg/ml	118.7 $\pm$ 40 (122.5)	107.2 $\pm$ 41.4 (105)	0.41 <sup>a</sup>
Fibronectina, en valores Z	-1.77 $\pm$ 0.49 (-1.63)	-1.75 $\pm$ 0.5 (-1.66)	0.89 <sup>a</sup>
Interleucina 6, en pg/ml	72.76 $\pm$ 172 (0)	19.92 $\pm$ 82.1 (0)	0.27 <sup>c</sup>
TNF, en pg/ml	3.9 $\pm$ 6.8 (0)	0.94 $\pm$ 2.86 (0)	0.14 <sup>c</sup>

\* a = Análisis por pruebas paramétricas    c = Análisis por pruebas no paramétricas

Se encuentra diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en 2 parámetros: nitrógeno uréico y creatinina. En ambos casos esto es atribuible a valores extremos que aumentan la dispersión; así mismo, aunque los parámetros promedio al ingreso fueron mayores en el grupo FBN en ambos casos tanto las medias como las medianas se encuentran dentro de los valores de referencia para la edad y no tienen significancia clínica. En el caso de la albúmina, probablemente más como reflejo de estado nutricional que de función hepática, aunque no alcanza diferencia significativa ( $p=0.06$ ), la media es menor en el grupo FBN. En ambos casos (función renal y albúmina) la diferencia favorece al grupo control. El valor Z de fibronectina (que corresponde a la DS para el grupo de edad) a la inclusión se encuentra en  $-1.77 \pm 0.5$  para el grupo FBN y  $-1.75 \pm 0.5$  para el grupo control, con medianas en  $-1.63$  y  $-1.66$  respectivamente. En ambos grupos destacan los valores por debajo de parámetros de referencia al ingreso en hematocrito, calcio, albúmina y complemento.

No se encontraron diferencias significativas en las variables demográficas ni clínicas entre los grupos de tratamiento al momento del ingreso al estudio, sustentando la comparabilidad basal del los grupos; aunque se encontró diferencia estadística entre los grupos de tratamiento en 2 parámetros de laboratorio (función renal), los valores de media y mediana se encuentran aún dentro de los límites de referencia para la edad y consideramos que la diferencia estadística no tiene significancia clínica.

**RESPUESTA AL TRATAMIENTO: VARIABLES PRIMARIAS**

Se registraron 6 casos (17.14% del total de los pacientes) con falla terapéutica, definida como la presencia de choque séptico, falla orgánica múltiple o defunción; 1 paciente en el grupo experimental (5.6% del grupo de tratamiento), y 5 pacientes en el grupo control (29.4% del grupo de tratamiento).

En el total de 6 fallas terapéuticas se registraron un total de 12 eventos mayores o de impacto: 3 defunciones (mortalidad global, 8.57%), 4 eventos de choque séptico (11.43% del total de pacientes) y 5 eventos de falla orgánica múltiple (14.28% de los pacientes). Al analizar las variables primarias de respuesta, por grupo de tratamiento, se encuentra diferencia principalmente en el grupo global de fallas terapéuticas (5.6% en el grupo FBN vs 29.4% en el grupo control) y en los eventos de FOM (5.6% en grupo FBN vs 23.5% en grupo control) (tabla 13); aunque no se alcanza diferencia estocástica entre los grupos, se observa una diferencia de 23.8 puntos porcentuales en la probabilidad de falla, con una reducción del riesgo relativo, clínicamente significativa, del 81% en el grupo de tratamiento.

Tabla 13. Respuesta a tratamiento: variables primarias

	Fibronectina n= 18	Control n= 17	P (Fisher)
Exitos‡	17 (94.4%)	12 (70.6%)	0.076
<i>Riesgo relativo (IC<sub>95%</sub>)</i>	1.34	(0.97 – 1.86)	
Fallas terapéuticas‡	1 (5.6%)	5 (29.4%)	0.076
<i>Riesgo relativo (IC<sub>95%</sub>)</i>	0.19	(0.03 – 1.46)	
Defunciones‡	1 (5.6%)	2 (11.8%)	0.478
<i>Riesgo relativo (IC<sub>95%</sub>)</i>	0.47	(0.05 – 4.74) *	
	1.07	(0.87 – 1.32) **	
Eventos de choque séptico‡	1 (5.6%)	3 (17.6%)	0.279
<i>Riesgo relativo (IC<sub>95%</sub>)</i>	0.32	(0.04 – 2.74) *	
	1.15	(0.9 – 1.47) **	
Eventos de FOM‡	1 (5.6%)	4 (23.5%)	0.151
<i>Riesgo relativo (IC<sub>95%</sub>)</i>	0.24	(0.03 – 1.91) *	
	1.24	(0.93 – 1.65) **	
Suspensiones***	2	1	0.478
Eliminaciones	1 (FOM en inclusión)	1 (FOM en inclusión)	1

‡ Expresados en número de casos (%)

\* RR para grupo fibronectina;

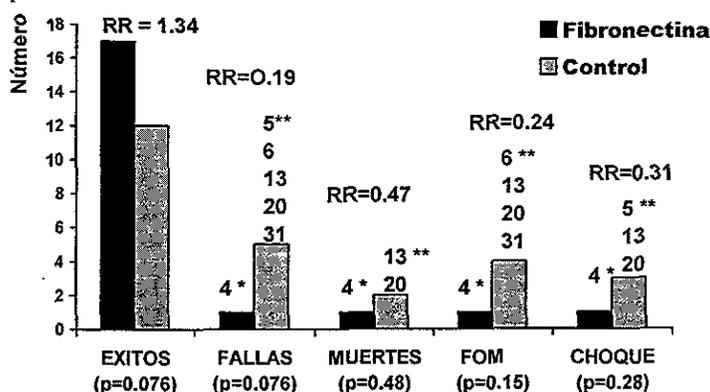
\*\* RR para grupo control

\*\*\* Grupo FBN, paciente 1: uso de gamaglobulina; paciente 24: uso de plasma. (Ambos clínicamente éxitos). Grupo control, paciente 31: uso de hemoderivados y gamaglobulina. (clínicamente falla terapéutica por FOM)

El riesgo para el grupo control, por razón de momios, fue de 7.08 veces mayor para falla terapéutica, 2.26 veces mayor para defunción, 3.64 veces mayor para desarrollo de choque séptico y de 5.23 veces mayor para falla orgánica múltiple.

A continuación se presenta la descripción de los eventos de impacto así como de las principales variables clínicas y paraclínicas de los pacientes que desarrollaron falla terapéutica (figura 8):

Figura 8. Resultados: Descripción de los eventos finales (éxitos / fallas terapéuticas) por grupo de tratamiento



\* Caso 4 (Dx: desnutrición): choque séptico, falla orgánica múltiple y defunción  
 \*\* Caso 5 (Dx: desnutrición): choque séptico  
 Caso 6 (Dx: desnutrición): choque séptico, falla orgánica múltiple  
 Caso 13 (Dx: desnutrición): choque séptico, falla orgánica múltiple y defunción  
 Caso 20 (Dx: sepsis): falla orgánica múltiple y defunción  
 Caso 31 (Dx: sepsis): falla orgánica múltiple

▪ En el grupo experimental se registró un solo caso de falla terapéutica (con 3 eventos de interés): paciente masculino de 9 meses de edad con desnutrición tipo Kwashiorkor y proceso infeccioso, sin cumplir criterios de sepsis (al ingreso, ataque al estado general y datos inespecíficos, con evidencia de foco infeccioso pulmonar y probable abdominal), padecimiento de 60 días de evolución; riesgo de mortalidad de 8.76% al ingreso, de 24.96% al 5to día y un máximo alcanzado de 90.12%. Fibronectina al ingreso 60mcg/ml, albúmina 0.9g%, fibrinógeno 100mg/dl, complemento 20 U/ml. El paciente desarrolló FOM (día 7 de estancia intrahospitalaria (EIH), día 6 de estudio, falla de 5 sistemas: gastrointestinal, hepático, respiratorio, hematológico y cardiovascular), choque séptico (día 10 -9 de

protocolo-) y falleció (día 11 de estancia intrahospitalaria -día 10 de protocolo- con diagnósticos finales de coagulación intravascular diseminada, SIRPA, FOM y sepsis grave descompensada). No se aisló germen causal.

▪ En el grupo control se registraron 5 casos de falla terapéutica (9 eventos de interés):

➤ Caso 5: paciente femenina de 6 meses de edad, con desnutrición marasmática primaria, sin foco infeccioso evidente a su ingreso, posterior pulmonar, padecimiento de 3 días de evolución; riesgo de mortalidad al ingreso 0, al 5to día 0, máximo alcanzado de 8.88%. Fibronectina al ingreso 75 mcg/ml, albúmina 4gr%, fibrinógeno 147mg/dl, complemento 150 U/ml. Choque séptico al día 21 de estancia intrahospitalaria -día 19 de seguimiento-. Germen aislado E.Coli 055.

➤ Caso 6: paciente masculino de 9 meses de edad, con desnutrición tipo Kwashiorkor y proceso infeccioso (criterios de fórmula blanca y datos inespecíficos, ataque al estado general, con evidencia de foco infeccioso abdominal), padecimiento de 14 días de evolución; riesgo de mortalidad al ingreso 1.47%, al 5to día 1.20%, máximo alcanzado de 5.97%. Fibronectina al ingreso 65 mcg/ml, albúmina 1.9gr%, fibrinógeno 301 con disminución a 131mg/dl, complemento 136 (disminución hasta 52 U/ml). El paciente desarrolló FOM (día 8 de EIH, -día 4 de estudio- falla de 2 sistemas: hematológico y cardiovascular) y choque séptico (día 9 de estancia intrahospitalaria -día 5 de estudio-). Sepsis por *Cándida* sp.

➤ Caso 13: paciente masculino de 23 meses de edad, con desnutrición tipo Kwashiorkor y proceso infeccioso (criterios de fórmula blanca, plaquetas, PaCO<sub>2</sub> y datos inespecíficos, ataque al estado general, con evidencia de foco infeccioso pulmonar y candidemia), padecimiento de 30 días de evolución; riesgo de mortalidad al ingreso 1.12%, máximo alcanzado de 20.13%. Fibronectina al ingreso 60mcg/ml, albúmina 2.8gr%, fibrinógeno 58mg/dl, complemento 59 U/ml). El paciente desarrolló FOM (día 8 de EIH, -día 3 de estudio- falla de 3 sistemas: hematológico, respiratorio y cardiovascular), choque séptico (día 8 de estancia intrahospitalaria -día 3 de estudio-) y falleció (día 9 de EIH, 4 de estudio, diagnósticos finales choque séptico y FOM). Germen aislado *Klebsiella pneumoniae*.

➤ Caso 20: paciente masculino de 8 años de edad, con diagnóstico de sepsis (criterios de temperatura, fórmula blanca, frecuencia cardíaca, PaCO<sub>2</sub> y datos inespecíficos, ataque al estado general, con evidencia de foco infeccioso -neuroinfección-), padecimiento de 8 días de evolución; riesgo de mortalidad al ingreso 4.82%, en día 5 89.94%, máximo alcanzado de 95.34%. Fibronectina al ingreso 185 mcg/ml, albúmina 2.66gr%, fibrinógeno 541mg/dl, complemento 179 U/ml). El paciente desarrolló FOM (día 5 de EIH, -día 3 de estudio- falla de 3 sistemas: neurológico, cardiovascular y respiratorio) y falleció (día 7 de EIH, 5 de

estudio, diagnósticos finales: muerte cerebral, edema cerebral severo, hidrocefalia, neuroinfección bacteriana). No se aisló germen causal.

➤ Caso 31: paciente masculino de 17 meses de edad, con diagnóstico de sepsis (criterios de frecuencia respiratoria, PaCO<sub>2</sub>, plaquetopenia y datos inespecíficos, ataque al estado general, con evidencia de foco infeccioso -tifoidea-) desnutrición primaria de primer grado, padecimiento de 6 días de evolución; riesgo de mortalidad al ingreso 37.29%, en día 5 8.45%, máximo alcanzado de 37.29%. Fibronectina al ingreso 65 mcg/ml, albúmina 2.4gr%, fibrinógeno 48 mg/dl, complemento 112). El paciente desarrolló FOM (día 3 de EIH, -día 1 de estudio- falla de 2 sistemas: hepático y hematológico). Germen aislado, *Salmonella tphi* .

Al analizar las fallas terapéuticas por estrato diagnóstico se encuentra que del total de fallas (6), 4 (66.7%) se presentaron en el grupo de desnutrición (4 fallas terapéuticas en 13 pacientes aleatorizados = 30.8% del estrato diagnóstico), 2 (33.3%) se presentaron en los pacientes con sepsis (2 fallas en 17 pacientes aleatorizados = 11.8% del estrato diagnóstico) y no hubo fallas terapéuticas en los pacientes de trauma.

Al analizar las fallas terapéuticas por estrato diagnóstico y grupo de tratamiento, en el grupo de desnutrición se registró 1 falla terapéutica en 7 casos (14.3%) en el grupo FBN y 3 fallas terapéuticas en 6 pacientes (50%) en el grupo control; en el estrato de sepsis se registraron 0 fallas terapéuticas en 8 pacientes en el grupo experimental y 2 fallas terapéuticas en 9 pacientes (22.2%) en el grupo control (tabla 14).

Tabla 14. Distribución de fallas terapéuticas por grupo de tratamiento y estrato diagnóstico

ESTRATO DX.	GLOBAL	FIBRONECTINA	CONTROL	P*	RM
Desnutrición	4/13	1/7	3/6	0.22	6
Sepsis	2/17	0/8	2/9	0.26	5.67
Trauma	0/5	0/3	0/2	NA	NA
Total	6/35	1/18	5/17	0.076	7.1

Datos expresados en número de casos positivos para falla / total del estrato

\* Prueba exacta de Fisher

Se realizó análisis multivariado para determinar las variables independientes que mejor predijeran la posibilidad de falla terapéutica. El modelo propuesto, de acuerdo a regresión

logística, permite predecir 94.3% de las fallas terapéuticas y aunque ninguna de las variables presenta significancia en forma aislada, el modelo alcanza un valor de  $X^2 = 25.03$  con una significancia de  $p = 0.0003$  (tabla 15).

Tabla 15. Variables incluidas en el modelo multivariado para la predicción de falla terapéutica.

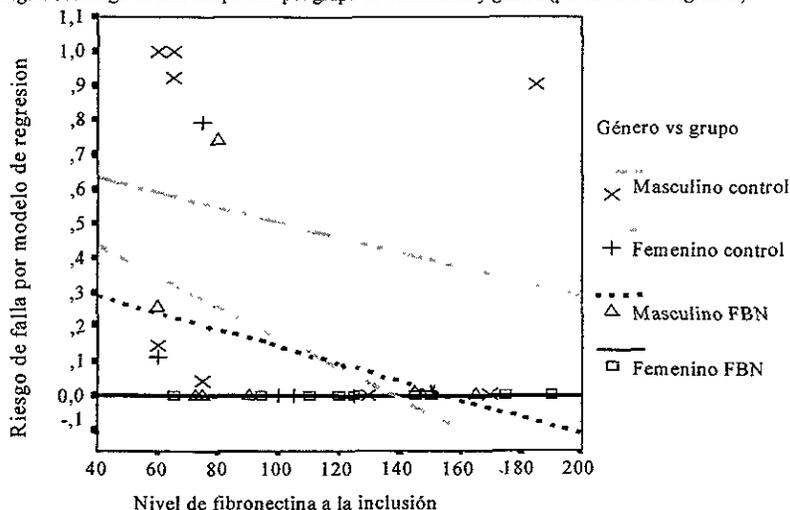
VARIABLE	B	EXP (B)*
Grupo de tratamiento	19.948	460468622
Género	16.034	9192329.7
Estrato diagnóstico	21.836	3041000000
Nivel de fibronectina al ingreso **	7,2911	1467.1754
Riesgo de mortalidad al ingreso	0.514	1.672
Edad	- 0.185	0.83
Constante	- 126.273	

\* Exp (B): equivalente a la razón de momios por modelo de regresión logística. El valor de riesgo para cada variable dicotómica corresponde a: Grupo de tratamiento placebo; nivel de fibronectina al ingreso:  $\leq 80$ mcg/ml, género: masculino

\*\* Como variable dicotómica con punto de corte de fibronectina en  $\leq 80$ mcg/ml

En base a la probabilidad de falla terapéutica por el modelo propuesto de regresión logística y al nivel de fibronectina al ingreso, se pueden identificar 4 líneas independientes con comportamiento distinto de acuerdo al grupo de tratamiento y al género, donde el mayor riesgo de falla terapéutica se encuentra en los pacientes masculinos del grupo control (fig 9).

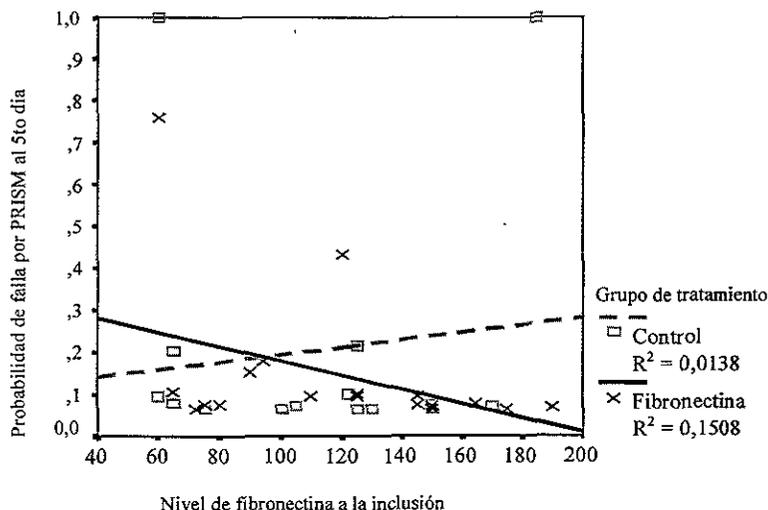
Figura 9. Riesgo de falla terapéutica por grupo de tratamiento y género (por modelo de regresión)



Así mismo, por modelos de regresión de acuerdo al riesgo de mortalidad al 5to día de maniobra y nivel de fibronectina al ingreso, se puede identificar diferencia en el

comportamiento de los grupos de tratamiento (figura 10).

Figura 10. Líneas de regresión por grupo de tratamiento de acuerdo a nivel de fibronectina y probabilidad de falla terapéutica por riesgo de mortalidad al día 5 de maniobra.



En el análisis de Cox, por método backward stepwise (condicional LR) las variables que quedan en el modelo son similares a las del modelo de regresión logística, sin embargo se elimina edad como factor pronóstico (tabla 16). El modelo tiene un valor de  $X^2$  de 15.27 con una significancia de  $p=0.009$ .

Tabla 16. Variables incluidas en el modelo de Cox para determinar falla terapéutica.

VARIABLE	B	EXP (B)*	SIG
Grupo de tratamiento	3.675	39.445	0.073
Género	-2.702	0.067	0.092
Estrato diagnóstico	3.258	25.988	0.079
Nivel de fibronectina al ingreso **	8.373	4328.638	0.325
Riesgo de mortalidad al ingreso	0.213	1.237	0.215

\* Exp (B): equivalente a la razón de momios por modelo de regresión. El valor de riesgo para cada variable dicotómica corresponde a: Grupo de tratamiento: placebo; nivel de fibronectina al ingreso:  $\leq 80$ mcg/ml; género: femenino (Exp(B) para masculino =14.9).

\*\* Como variable dicotómica con punto de corte de fibronectina en  $\leq 80$ mcg/ml

En el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, se demostró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de tratamiento, con un valor de log-rank en 3.74 ( $p=0.05$ ). (figura 11, 11b)

Figura 11. Análisis de Kaplan-Meier por grupo de tratamiento: Porcentaje de éxitos

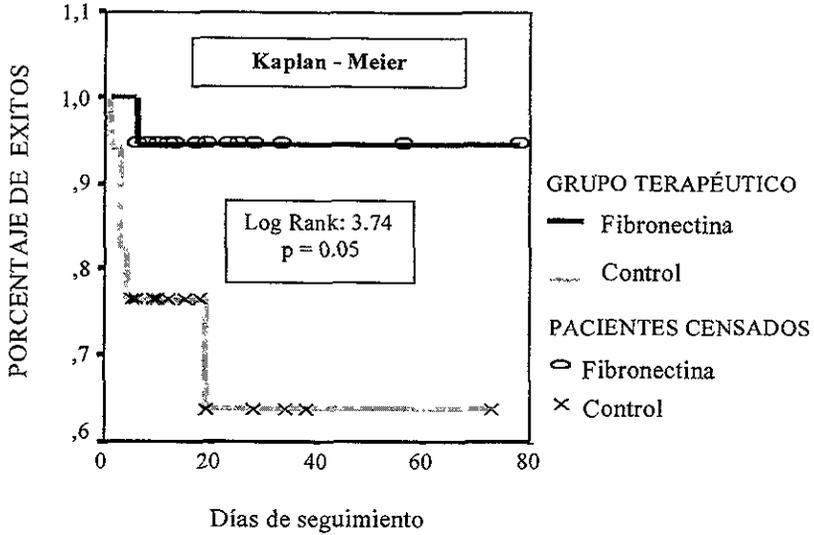
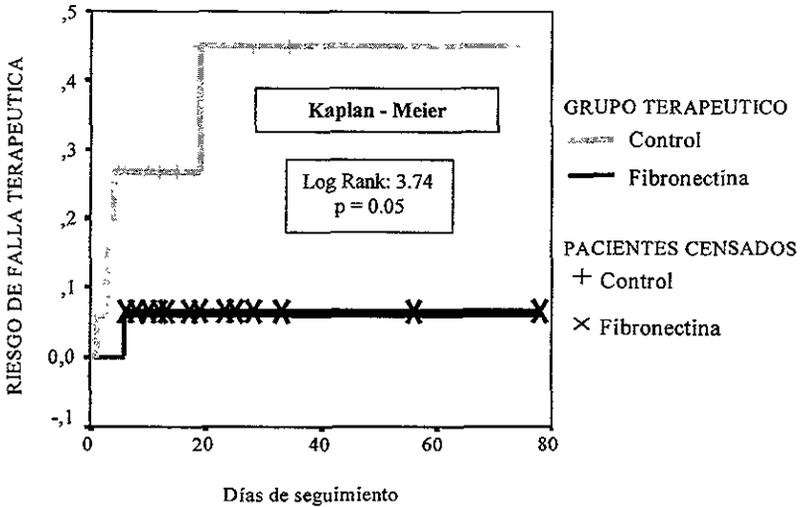
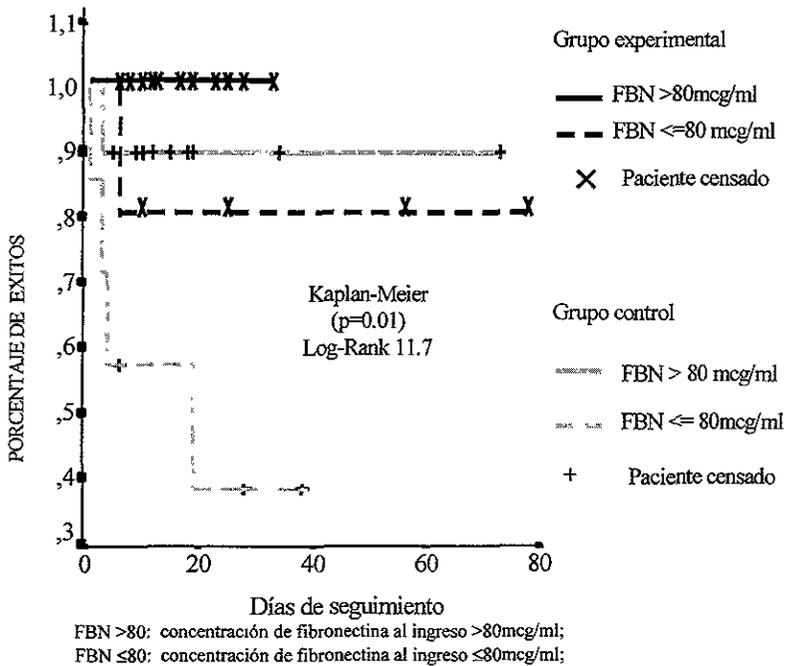


Figura 11b. Análisis de Kaplan-Meier por grupo de tratamiento: Riesgo de falla terapéutica. Eventos de FOM, choque séptico y defunción en el tiempo de seguimiento.



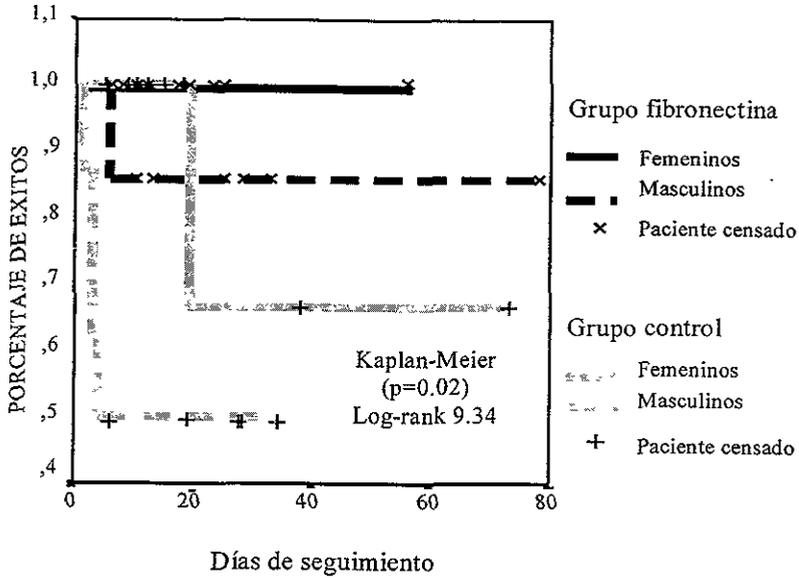
Si además de diferenciar por grupos de tratamiento se subdividen éstos de acuerdo al nivel de fibronectina al ingreso, con un punto de corte de  $\leq 80$ mcg/ml, se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos (Log Rank 11.17,  $p=0.01$ ) (figura 12)

Figura 12. Curvas de sobrevida según grupo de tratamiento y nivel de fibronectina plasmática al momento de la inclusión.



De igual manera en el análisis de Kaplan-Meier, si se subdividen los grupos de tratamiento por género de los pacientes, se encuentra entre los cuatro categorías generadas una clara separación de las líneas de sobrevida libre de falla terapéutica en el seguimiento (Log Rank 9.34,  $p=0.02$ ) (figura 13).

Figura 13. Curvas de Kaplan-Meier para riesgo de falla terapéutica según grupo de tratamiento y género.



En términos generales el riesgo de falla terapéutica para los pacientes masculinos fue de 9.5 veces mayor que para los pacientes femeninos. En el grupo FBN el riesgo de falla terapéutica fue 5.3 veces mayor mientras que en el grupo control fue de 8 veces mayor en comparación con el género femenino.

**RESPUESTA AL TRATAMIENTO: VARIABLES SECUNDARIAS**

En el análisis de las variables secundarias no encontramos diferencia estadísticamente significativa en el puntaje de la valoración de PRISM (o riesgo de mortalidad) ni en las medias de estancia intrahospitalaria por grupo (tabla 17).

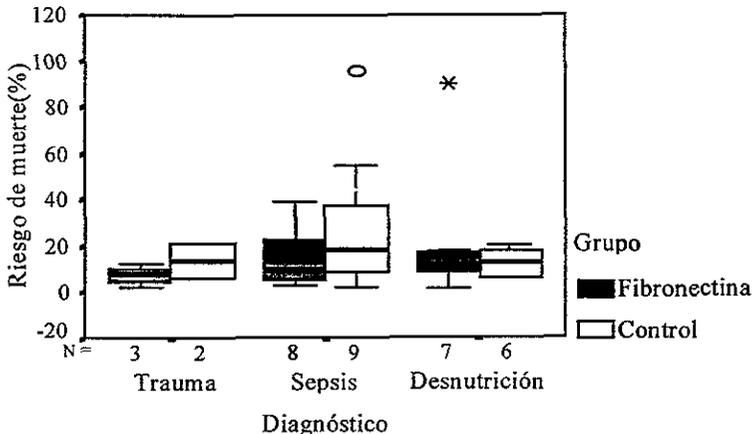
Tabla 17. Respuesta al tratamiento: variables secundarias

$\bar{x} \pm DS$ (Md) (rango)	Fibronectina n= 18	Control n= 17	P*
PRISM máximo alcanzado	13.9 $\pm$ 7 (13.5) (3 - 34)	16.2 $\pm$ 8.1 (16) (4 - 42)	0.39 <sup>a</sup>
Porcentaje riesgo de mortalidad	16.2 $\pm$ 20.8 (10) (1.3 - 90.12)	21.3 $\pm$ 23.3 (15.9) (1.65 - 95.34)	0.31 <sup>c</sup>
PRISM al 5to día de tratamiento	5.39 $\pm$ 5.37 (4.5) (0 - 18)	9.76 $\pm$ 19.19 (2) (0 - 75)	0.36 <sup>c</sup>
Porcentaje riesgo de mortalidad	4.15 $\pm$ 6.43 (1.97) (0 - 24.96)	12.94 $\pm$ 31.05 (15.9) (0 - 100)	0.28 <sup>c</sup>
Estancia intrahospitalaria (días)	22.78 $\pm$ 18.25 (18) (6 - 78)	27.41 $\pm$ 24.82 (18) (5 - 84)	0.53 <sup>a</sup>

\* a = Análisis por pruebas paramétricas c = Análisis por pruebas no paramétricas

Al subdividir los puntajes máximos de riesgo de mortalidad de acuerdo a estrato diagnóstico tampoco encontramos diferencia estadística entre los grupos (figura 14).

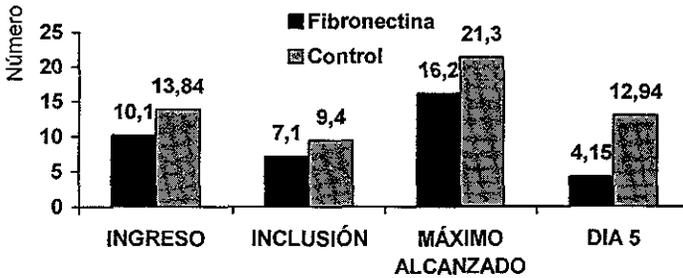
Figura 14. Porcentaje máximo alcanzado de riesgo de mortalidad por estrato diagnóstico y grupo de tratamiento



Al analizar los cambios en riesgo de mortalidad por grupo encontramos (figura 15):

1. Inclusión vs máximo alcanzado (diferencia entre grupos no es significativa ( $p=0.61$ )):
  - FBN: diferencia media en porcentaje de riesgo de mortalidad =  $-9.16 \pm 19.94$  (IC<sub>95%</sub> -19.08 a 0.76),  $p=0.001$ .
  - Control: diferencia media en porcentaje de riesgo de mortalidad =  $-11.91 \pm 10.2$  (IC<sub>95%</sub> -17.16 a -6.67),  $p < 0.001$ .

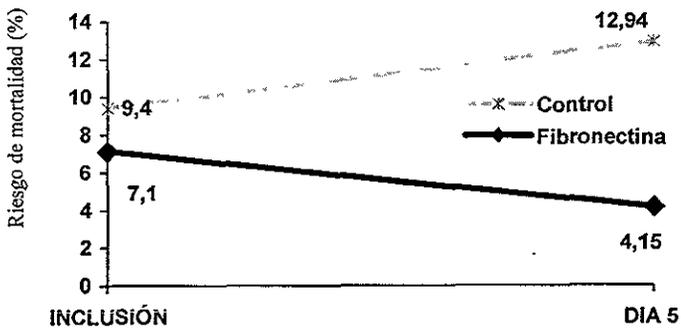
Figura 15. Valoración de riesgo de mortalidad por grupo de tratamiento



2. Al comparar el cambio en el porcentaje de riesgo de mortalidad entre la inclusión y el día 5 de protocolo por grupo de tratamiento se encuentra diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.006$ ) (figura 16):

- FBN: Diferencia media  $-2.93 \pm 8.66$  (mediana  $-1.2$ , IC<sub>95%</sub> -7.24 a 1.38) vs
- Control: Diferencia media  $3.52 \pm 26.58$  (mediana  $-1.65$ , IC<sub>95%</sub> -10.15 a 17.19).

Figura 16. Valoración de riesgo de mortalidad por grupo de tratamiento: inclusión vs día 5



En el análisis de las variables de laboratorio, al comparar los valores del ingreso vs día 5 encontramos diferencia significativa por incremento en los valores de fibronectina en ambos grupos ( $p=0.001$ ), sin diferencia entre grupos ( $p=0.6$ ). Así mismo, se encuentra diferencia significativa por incremento de albúmina en el grupo de fibronectina ( $p=0.006$ ), y no así en el grupo control ( $p=0.08$ ); la comparación entre grupos no es significativa ( $p=0.3$ ). Los valores de fibrinógeno fueron significativamente mayores en el grupo de FBN al día 5 ( $p=0.03$ ), asociado al uso de crioprecipitados, habiéndose registrado incremento en el grupo FBN con respecto al ingreso ( $p=0.09$ ) mientras hubo disminución en el grupo control ( $p=0.05$ ). En el resto de las variables no se encontraron diferencias relevantes. No se encontró diferencia en parámetros de función renal ni hepática asociables a la maniobra. (tablas 18, 19).

Tabla 18. Respuesta al tratamiento: variables secundarias: LABORATORIO

Incrementos porcentuales $\bar{X} \pm DS$ (Md)	Fibronectina n= 18	Control n= 17	P*
<b>Fibronectina</b>			
Diferencia porcentual	115.6 $\pm$ 134.6 (69.1)	103 $\pm$ 82.4 (86.4)	0.70 <sup>c</sup>
diferencia neta (mcg/ml)	114.4 $\pm$ 114.7 (97.5)	100.8 $\pm$ 59.3 (89.5)	0.67 <sup>a</sup>
incremento neto valores Z	1.62 $\pm$ 1.57 (1.28)	1.36 $\pm$ 0.84 (1.37)	0.56 <sup>a</sup>
<b>Fibrinógeno</b>			
Diferencia porcentual	45.2 $\pm$ 67.6 (51.9)	34.8 $\pm$ 185.9 (-4.07)	0.04 <sup>c</sup>
diferencia neta (mg/dl)	64.7 $\pm$ 145.9 (82)	-31.8 $\pm$ 159.7 (-20)	0.03 <sup>c</sup>
<b>Albúmina</b>			
Diferencia porcentual	35.4 $\pm$ 48.3 (12.3)	12.2 $\pm$ 24.4 (3.9)	0.22 <sup>c</sup>
diferencia neta (mg/dl)	0.5 $\pm$ 0.7 (0.35)	0.3 $\pm$ 0.7 (0.1)	0.37 <sup>a</sup>
<b>Complemento</b>			
Diferencia porcentual	22.4 $\pm$ 72.5 (1.98)	15.4 $\pm$ 37 (13.9)	0.48 <sup>c</sup>
diferencia neta unidades	9.5 $\pm$ 46 (1.5)	13.4 $\pm$ 51.4 (21.5)	0.47 <sup>c</sup>
<b>Interleucina- 6</b>			
Diferencia porcentual	-8.8 $\pm$ 43.4 (0)	4.2 $\pm$ 26.9 (0)	0.37 <sup>c</sup>
Diferencia neta (pg/ml)	4.5 $\pm$ 311.4 (0)	-5.6 $\pm$ 29.2 (0)	0.48 <sup>c</sup>
<b>Factor de necrosis tumoral</b>			
Diferencia porcentual	8.9 $\pm$ 94.2 (0)	-1.2 $\pm$ 36.8 (0)	0.90 <sup>c</sup>
Diferencia neta (pg/ml)	-0.05 $\pm$ 10.6 (0)	-0.44 $\pm$ 3.1 (0)	0.92 <sup>c</sup>

\* a = Análisis por pruebas paramétricas c = Análisis por pruebas no paramétricas

Tabla 19. Respuesta al tratamiento: variables secundarias: LABORATORIO

x ± DS (Md)	Fibronectina n= 18			Control n= 17			P++	FBN vs control P+++
	Ingreso	5to día	P+	Ingreso	5to día	P+		
Hematocrito	32.2 ± 8.6	32.96 ± 5.95 (32)	0.84	30.4 ± 7.2	33.58 ± 6.22 (32)	0.23	0.49	0.29
Glucosa	103.4 ± 45	97.69 ± 56.02 (80.5)	0.83	109.8 ± 72.2	102.53 ± 38.97 (95)	0.63	0.17	0.18
Nitrógeno uréico	10.8 ± 8.2	7.51 ± 5.74 (5.8)	0.25	8.95 ± 16.5	4.47 ± 1.94 (3.8)	0.26	0.23	0.94
Creatinina	0.54 ± 0.22	0.41 ± 0.15 (0.4)	0.1	0.55 ± 0.66	0.35 ± 0.07 (0.36)	0.22	0.08	0.24
TGO	51.7 ± 35.3	47.5 ± 30.76 (37)	0.26	92.1 ± 137.5	54.6 ± 40.94 (36)	0.19	0.88	0.23
TGP	54.7 ± 47.5	41.25 ± 29.24 (29.5)	0.17	58.4 ± 63.7	44.93 ± 40 (30)	0.3	0.85	0.99
Bilirrubina total	1.03 ± 1.23	1.02 ± 1.49 (0.56)	0.83	1.49 ± 2.25	0.87 ± 1.05 (0.4)	0.28	0.65	0.93
Calcio	8.2 ± 1.2	8.24 ± 1.19 (8.35)	0.74	8.6 ± 1.6	8.47 ± 1.13 (8.56)	0.91	0.55	0.55
Potasio	4.2 ± 1.1	4.43 ± 1 (4.43)	0.5	4.6 ± 0.9	4.27 ± 0.76 (4.3)	0.36	0.7	0.26
Tiempo de protrombina	76.4 ± 21.5	87.38 ± 12.23 (90.5)	0.11	74.4 ± 22.6	85.99 ± 14.39 (86.8)	0.11	0.74	0.75
Fibronectina	118.7 ± 40	233.1 ± 113.1 (187.5)	0.001	107.2 ± 41.4	210.9 ± 78.5 (192.5)	<0.001	0.51	0.6
Valores Z de fibronectina	-1.77 ± 0.49	-0.15 ± 1.5 (-0.36)	<0.001	-1.75 ± 0.5	-0.36 ± 0.85 (-0.37)	<0.001	0.62	0.99
Fibrinógeno	224.9 ± 109.6	286.3 ± 166.5 (219)	0.09	224.8 ± 149	208.1 ± 131.3 (166)	0.45	0.05	0.03
Albumina	2.4 ± 0.86	2.93 ± 0.7 (2.98)	0.006	2.9 ± 0.55	3.21 ± 0.7 (3.25)	0.08	0.24	0.3
Complemento	116.4 ± 57.9	125.9 ± 58.3 (126.5)	0.39	138.7 ± 42	157.1 ± 35.3 (156)	0.32	0.07	0.47
Interleucina-6	72.76 ± 172	77.3 ± 268.6 (0)	0.95	19.92 ± 82.1	15.5 ± 56.3 (0)	0.46	0.79	0.48
Factor de necrosis tumoral	3.9 ± 6.8	3.8 ± 7.8 (0)	0.98	0.94 ± 2.86	0.56 ± 1.5 (0)	0.58	0.21	0.92

+ Valor de significancia de la prueba de t-pareada para la comparación de los valores de inclusión vs día 5

++ Valor de significancia para la comparación de valores de 5to día entre grupos de tratamiento

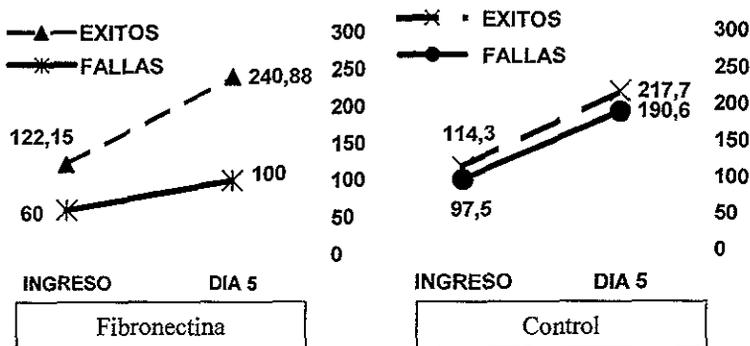
+++ Valor de significancia para la comparación de las diferencias de inclusión vs 5to día entre grupos de tratamiento (FBN vs control)

Eficacia de la fibronectina como coadyuvante en el tratamiento de niños hipofibrinoténicos con sepsis, desnutrición o trauma severo

## FIBRONECTINA.

No se encontró correlación significativa entre los niveles de fibronectina y el riesgo de mortalidad al momento de la inclusión ( $r=0.195$ ,  $p=0.26$ ). La correlación entre el nivel de fibronectina al ingreso y el riesgo de mortalidad al día 5 de tratamiento fue de  $r=-0.31$ ,  $p=0.07$ . Al evaluar los niveles de fibronectina en ambos grupos de acuerdo al resultado (éxito vs falla terapéutica), llama la atención que en el único paciente que presentó falla terapéutica en el grupo experimental, no se encuentra el incremento esperado en los valores de fibronectina al día 5 de tratamiento (figura 17).

Figura 17. Fibronectina al ingreso y día 5 por grupo de tratamiento y resultado (éxitos vs fallas)



Se encontró una correlación del nivel inicial de fibronectina con falla terapéutica de  $-0.357$ , ( $p=0.037$ ), sin embargo, al emplear el nivel de fibronectina inicial como variable dicotómica con punto de corte en  $80\text{mcg/ml}$  el coeficiente de correlación aumenta a  $-0.47$  ( $p=0.004$ )

Durante el estudio clínico destaca que la aparición de las variables de interés (FOM, choque séptico o defunción) se encontraron principalmente en pacientes con niveles de fibronectina al ingreso de  $\leq 80\text{mcg/ml}$  (5 de los 6 pacientes con falla terapéutica). Si se establece un punto arbitrario de corte en este valor, independientemente de la edad, para definir hipofibronectinemia, se tiene una sensibilidad= $83.33\%$ , especificidad= $95.65\%$ , y  $RM=15.71$  ( $IC_{95\%}$  1.56 a 158.21) para determinar falla terapéutica (tabla 20).

Tabla 20 Fallas terapéuticas de acuerdo a punto de corte de fibronectina al ingreso en  $\leq 80$ mcg/ml

Fibronectina al ingreso	Fallas terapéuticas	Exitos	Total
$\leq 80$ mcg/ml	5 (41.7%)	7 (58.3%)	12 34.3%
$> 80$ mcg/ml	1 (4.3%)	22 (95.7%)	23 65.7%
Total	6 (17.1%)	29 (82.9%)	35 100%

( $p=0.012$ , RR para fallas terapéuticas 9.58, con IC95% 1.26 - 73)

Se realizaron curvas ROC para determinar el punto de corte de fibronectina inicial, independientemente de la edad, que presentara la mejor sensibilidad y especificidad para detectar la posibilidad de eventos de falla terapéutica. De acuerdo a estas curvas el valor de fibronectina al ingreso de 77.5 se encuentra asociado a una sensibilidad de 79.3% y una especificidad de 83.3% para detectar falla terapéutica, con un área bajo la curva de 0.77 y error standard de 0.141 ( $p=0.04$ ). Si se emplean los valores de referencia de normalidad de fibronectina por los intervalos de edad propuestos en el marco teórico, al tomar un punto de corte estandarizado en valores Z de  $-2.1$ , se tendría una sensibilidad de 79.3% con una especificidad de 50% para detectar falla terapéutica.

Del total de 95 pacientes elegibles (incluidos y no incluidos), que cumplieron criterios clínicos de gravedad, 18 tuvieron niveles de fibronectina  $\leq 80$ mcg/ml y, de ellos, 11 presentaron eventos clínicos graves, mientras que solamente 5 pacientes de 76 con fibronectina inicial  $> 80$ mcg/ml los presentaron. ( $p<0.001$ ) (tabla 21).

Tabla 21. Distribución de los pacientes con eventos clínicos de gravedad de acuerdo a nivel de fibronectina al ingreso

Fibronectina al ingreso	Eventos adversos mayores		Total
	SI (↓)	NO (↓)	
$\leq 80$ mcg/ml (→)	11 (61.11% →) (68.75% ↓)	7 (38.88% →) (8.86% ↓)	18 (100% →) (18.95% ↓)
$> 80$ mcg/ml (→)	5 (6.5% →) (31.25% ↓)	72 (93.5% →) (91.14% ↓)	77 (100% →) (81.05% ↓)
Total	16 (18.65% →) (100% ↓)	79 (83.15% →) (100% ↓)	95 (100% →) (100% ↓)

( $X^2=27.3$ ,  $p<0.001$ , RM 22.63)

La distribución de los pacientes con valores de fibronectina  $\leq 80$ mcg/ml por grupo no tuvo diferencia significativa (tabla 22).

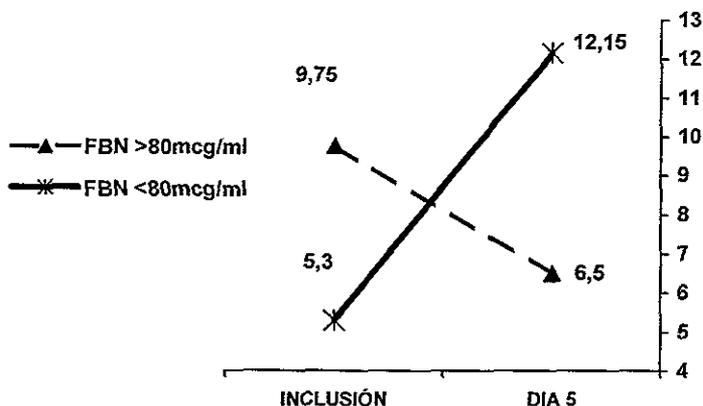
Tabla 22. Distribución de los pacientes de acuerdo a punto de corte de fibronectina al ingreso en  $\leq 80\text{mcg/ml}$  por grupo de tratamiento

Fibronectina al ingreso	Fibronectina	Control	Total
$\leq 80\text{ mcg/ml}$	5 (27.8%)	7 (41.2%)	12 (34.3%)
$> 80\text{ mcg/ml}$	13 (72.2%)	10 (58.8%)	23 (65.7%)
Total	18 (100%)	17 (100%)	35 (100%)

( $\chi^2 = 0.697$ ,  $p = 0.49$ )

No se encontró diferencia significativa en el riesgo de mortalidad al momento de la inclusión ni al día 5 de tratamiento entre los grupos por punto de corte de fibronectina en  $80\text{mcg/ml}$  ( $p=0.3$  y  $0.5$  respectivamente), sin embargo llama la atención que mientras que en el grupo con nivel de FBN  $>80\text{mcg/ml}$  al ingreso el riesgo de mortalidad disminuyó durante los días de tratamiento, en el grupo de FBN  $\leq 80\text{mcg/ml}$  el riesgo incrementó (figura 18).

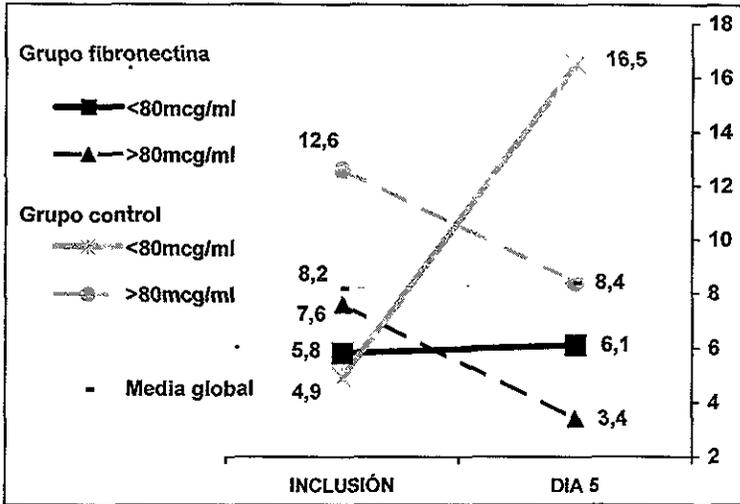
Figura 18. Riesgo de mortalidad a la inclusión y día 5 por nivel de fibronectina al ingreso.



(Asociación entre grupo por nivel de fibronectina y riesgo de mortalidad a la inclusión:  $\eta^2 = 0.032$ ; riesgo al día 5:  $\eta^2 = 0.123$  ( $\eta^2 = 0.015$ ))

Si se subdivide la información anterior por grupo de tratamiento se identifican 4 diferentes comportamientos en el riesgo de mortalidad, destacando el de los casos con fibronectina inicial  $\leq 80\text{mcg/ml}$  del grupo control (figura 19).

Figura 19. Riesgo de mortalidad a la inclusión y día 5 por nivel de fibronectina al ingreso y grupo de tratamiento



Dentro del grupo de pacientes con valores de fibronectina  $\leq 80$ mcg/ml, la distribución de los pacientes con falla terapéutica por grupo de tratamiento, aunque no alcanza diferencia significativa (tabla 23), si llama la atención al demostrar una frecuencia de fallas del 20% para el grupo FBN vs 57.1% para el grupo control (reducción del riesgo en 65%).

Tabla 23. Distribución de los pacientes con FBN inicial  $\leq 80$ mcg/ml por grupo de tratamiento y resultado (éxito vs falla terapéutica)

Grupo	Fallas	Exitos	Total
Control	4 (57.1%)	3 (42.9%)	7 (100%)
Fibronectina	1 (20%)	4 (80%)	5 (100%)
Total	5 (41.7%)	7 (58.3%)	12 (100%)

( $X^2 = 1.656$ ,  $p = 0.29$  por prueba de Fisher, RM 5.33 para falla terapéutica grupo control)

Se encontró correlación significativa entre los niveles de fibronectina al ingreso y los niveles

- Fibrinógeno al ingreso ( $r = 0.38$ ,  $p = 0.023$ )
- Fibrinógeno al día 5 ( $r = 0.52$ ,  $p = 0.002$ )
- Factor de necrosis tumoral (TNF) al ingreso ( $r = -0.36$ ,  $p = 0.035$ ) y
- Complemento, inicial y día 5, ( $r = 0.37$ ,  $p = 0.035$ ).

El nivel de fibronectina al día 5 del estudio presentó correlación significativa únicamente con los niveles de fibrinógeno al día 5 ( $r=0.41$ ,  $p=0.019$ ) y complemento al día 5 ( $r=0.37$ ,  $p=0.03$ ).

En relación al resto de los parámetros de laboratorio con implicaciones en la respuesta inmunitaria se encontraron las siguientes correlaciones significativas (tabla 24):

Tabla 24. Correlaciones significativas entre parámetros de laboratorio (los valores se presentan como coeficiente de correlación  $-r$  (valor de significancia  $-p$ )).

	TNF (inicial)	Complemento (inicial)	Complemento (día 5)	Fibrinógeno (inicial)
Albúmina (inicial)	-0.52 (0.002)	0.52 (0.002)	0.51 (0.002)	0.45 (0.007)
Albúmina (día 5)	-0.38 (0.029)	0.41 (0.015)	0.59 (<0.001)	NS
Fibrinógeno (inicial)	-0.43 (0.009)	0.29 (0.09)	NS	
Fibrinógeno (día 5)	NS	NS	0.36 (0.04)	NS
TNF (inicial)		-0.44 (0.008)	-0.32 (0.07)	-0.43 (0.009)

NS = no significativo

Los niveles de interleucina-6 al ingreso no presentaron correlación significativa con ningún otro parámetro de laboratorio. Los niveles de IL-6 al día 5 correlacionan con los niveles de TNF (ingreso:  $r=0.34$ ,  $p=0.05$ ; al día 5:  $r=0.56$ ,  $p=0.001$ ) y albúmina día 5 ( $r= -0.35$ ,  $p=0.045$ ).

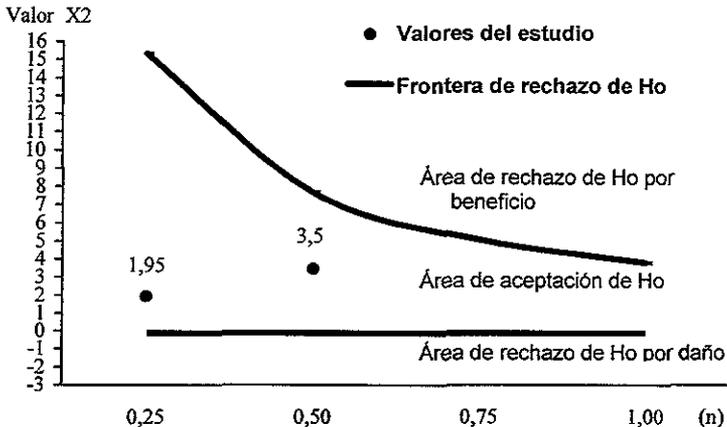
Se encontró correlación significativa entre los días de estancia intrahospitalaria y los niveles de albúmina al día 5 ( $r=-0.4$ ,  $p=0.02$ ), complemento día 5 ( $r= -0.38$ ,  $p=0.025$ ), TNF al ingreso ( $r=0.35$ ,  $p=0.042$ ) y con los niveles de fibronectina al ingreso ( $r=-0.29$ ,  $p=0.08$ ) y fibrinógeno al día 5 ( $r= -0.31$ ,  $p=0.08$ ).

### ANÁLISIS INTERIM

Durante el estudio se suspendió el protocolo en 3 pacientes, 2 correspondientes al grupo experimental y 1 al grupo control. En los 3 casos el criterio de suspensión fue la administración de hemoderivados y/o inmunomoduladores. El análisis estadístico fue realizado bajo criterio de intención a tratar. No se presentaron pérdidas al seguimiento. El código de asignación de grupo fibronectina o control fue abierto al terminar el análisis interim, al completar el 50% de la muestra, por criterios estadísticos.

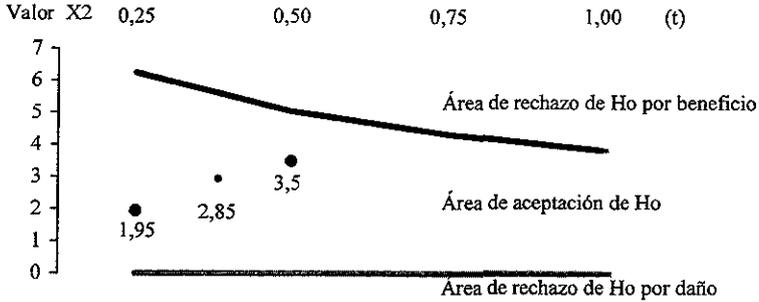
El control de error alfa por función de consumo de  $\alpha$  y método secuencial agrupado de O'Brien-Fleming establecen las fronteras de aceptación y rechazo de hipótesis nula de acuerdo a los valores de la prueba estadística primaria ( $X^2$ ). Para la interpretación de los niveles de significancia de acuerdo a estos métodos se presentan las fronteras así como los valores obtenidos en el estudio tanto para la comparación de grupos por prueba de  $X^2$ , por método de O'Brien-Fleming (figura 20) y por función de consumo de  $\alpha$  (figura 21), como para la comparación de grupos de tratamiento por análisis de sobrevida (Log-Rank, distribución de  $X^2$  con un grado de libertad para la comparación de 2 grupos y 3 grados de libertad en las comparaciones de 4 grupos, figura 21).

Figura 20. Fronteras de significancia para rechazo de hipótesis nula por O'Brien-Fleming: Comparación de grupos por  $X^2$ .



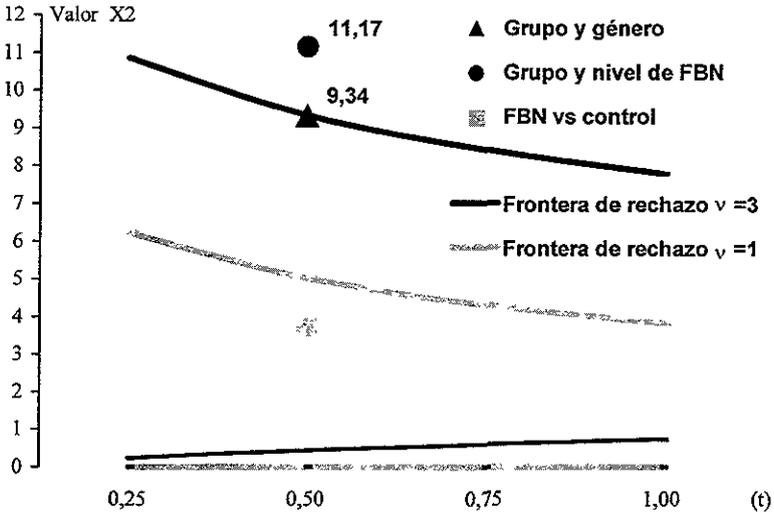
Los puntos señalan los datos del estudio en sus diferentes momentos. En el eje X, n representa la fracción del tamaño muestral; en el eje Y se representa el valor de la prueba estadística principal ( $X^2$ ). Las líneas señalan las fronteras de rechazo de hipótesis nula; la frontera negativa al 50% de la positiva. Las fronteras son discretas con valores críticos derivados de  $(n)(X_{1-\alpha/2}^2) \geq P(N, \alpha)$  para un  $\alpha=0.05$  y  $N=4$

Figura 21. Fronteras de significancia para rechazo de hipótesis nula por función de consumo de  $\alpha$ : Comparación de grupos por  $\chi^2$ .



Los puntos señalan los datos del estudio en sus diferentes momentos. En el eje X,  $t$  representa la fracción del tamaño muestral; en el eje Y se representa el valor de la prueba estadística principal ( $\chi^2$ ). Las líneas señalan las fronteras de rechazo de hipótesis nula; la frontera negativa al 50% de la positiva.

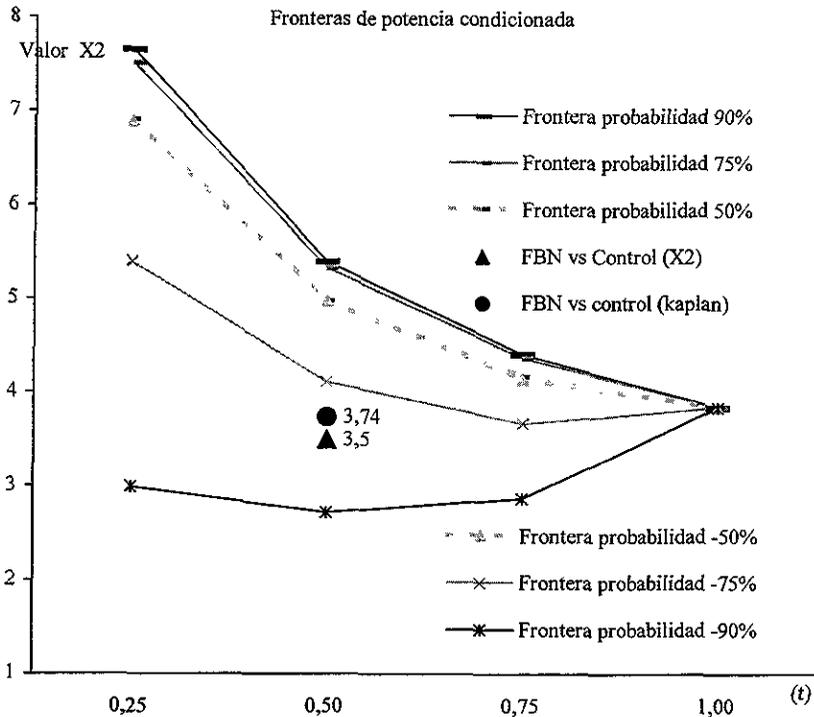
Figura 22. Fronteras de significancia para rechazo de hipótesis nula por función de consumo de  $\alpha$ : Comparación de grupos por análisis de sobrevida (Log-Rank).



Los puntos señalan los datos del estudio en el análisis al 50% de la muestra. En gris se muestra el valor de la comparación entre grupos de tratamiento (1 grado de libertad,  $v=1$ ). En negro se muestran los valores para la comparación entre grupos de tratamiento por género y nivel de fibronectina al ingreso (3 grados de libertad,  $v=3$ ). En el eje X,  $t$  representa la fracción del tamaño muestral; en el eje Y se representa el valor de la prueba estadística ( $\chi^2$ ).

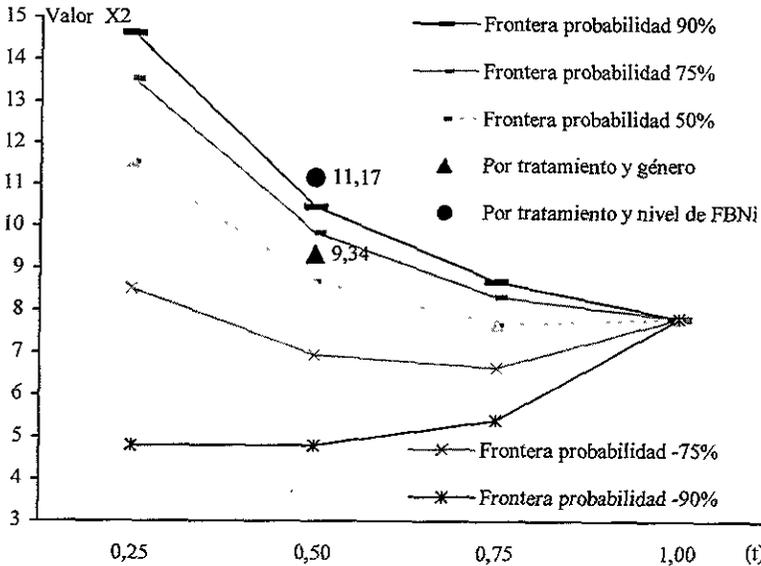
En el análisis por potencia condicionada, bajo la hipótesis nula, se encontraron valores muy bajos de poder para la comparación entre grupos de tratamiento por análisis de  $X^2$  (16%); para el análisis de sobrevida, para la comparación simple de los 2 grupos la probabilidad fue de 19% (figura 23a). En el estudio de sobrevida con subdivisión de los grupos por género y por concentración de fibronectina inicial por punto de corte en 80 mcg/ml los valores de potencia condicionada fueron respectivamente de 63.5% y 98.9% para el rechazo de hipótesis nula dados los datos actuales. (Figura 23b)

Figura 23a. Fronteras de potencia condicionada por nivel de probabilidad para  $v=1$  Comparación de grupos por  $X^2$  y análisis de sobrevida (Log-Rank).



Los puntos señalan los valores obtenidos del estudio en la comparación entre grupos en el análisis al 50% de la muestra.

Figura 23b. Fronteras de potencia condicionada por nivel de probabilidad para  $v=3$   
Comparación de 4 grupos por análisis de sobrevida (Log-Rank).



Los puntos señalan los valores obtenidos del estudio en la comparación entre grupos en el análisis al 50% de la muestra.

Se dió seguimiento a los pacientes desde su inclusión hasta su egreso o defunción. Todos los pacientes recibieron la atención clínica, antibióticos, agentes farmacológicos y hemoderivados apropiados a sus necesidades individuales. Se requirió de maniobras fuera del protocolo en los 3 casos de suspensión referidos previamente (administración de hemoderivados y/o inmunomoduladores).

Durante protocolo se dió seguimiento clínico a todos los pacientes, durante y posterior a la administración del tratamiento, para la detección de efectos colaterales o adversos atribuibles a la maniobra: reacciones alérgicas (manifestaciones cutáneas, fiebre, dolor, etc), cambios ventilatorios o hemodinámicos por efectos de infusión de volumen o albúmina, o alteración en parámetros hematológicos y bioquímicos. No se registró ningún caso de efecto colateral.

El estudio fue detenido por criterios del análisis administrativo (realizado posterior al análisis estadístico), secundario a fracaso en la tasa de captura.

## CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

El trauma, los procesos infecciosos y la desnutrición son patologías frecuentes en nuestro medio. Las características comunes en estas diferentes patologías incluyen la frecuencia de morbilidad asociada a sobreinfecciones o complicaciones del evento séptico (choque, falla orgánica múltiple y mortalidad) y la alteración de los mecanismos de defensa inmunológica, entre ellos, la hipofibrinectinemia. La selección de los 3 estratos diagnósticos para el estudio se basa tanto en su frecuencia como en las características comunes mencionadas y no en la intención de compararlos entre sí; consideramos la estratificación al diseño para controlar las diferencias pronósticas y de comportamiento entre diferentes enfermedades.

En nuestro estudio la incidencia de hipofibrinectinemia en pacientes con criterios clínicos de enfermedad grave (trauma severo, desnutrición de tercer grado o sepsis) fue mayor al 50% (54.7% global, 40% para el estrato de trauma, 58.8% para el estrato de sepsis y 58.3% de los pacientes del estrato de desnutrición), contrastando con frecuencias más altas reportadas en otros estudios (73% en pacientes de trauma<sup>11</sup> y hasta 100% en pacientes con desnutrición<sup>13</sup> y quemados<sup>57</sup>). Esta diferencia puede estar dada por varios factores, incluyendo:

1. Las patologías incluidas y las edades de los pacientes: la mayoría de los estudios reportados incluyeron adultos con trauma mayor y sepsis.
2. El comportamiento de la hipofibrinectinemia, donde ha sido descrito que ésta no se desarrolla inmediatamente posterior a un evento desencadenante, sino que, aunque puede presentarse desde las primeras 12 hrs<sup>58</sup> en aproximadamente 50% de los pacientes, se ha registrado su detección hasta después de 7 días de internamiento<sup>11</sup>. En este estudio no se dio seguimiento seriado a todos los pacientes con criterios clínicos y primera detección de fibronectina en límites de referencia.
3. La determinación en sí de las concentraciones de fibronectina (diferentes métodos de procesamiento, cuantificación sérica vs plasmática, formas de almacenamiento y prevención de precipitación y proteólisis) y los posibles factores que alteran esta medición (p.e. en pacientes críticos heparinizados, la presencia de heparina en el plasma induce cambios conformacionales de la molécula de fibronectina, lo que puede influir en determinantes antigénicos)<sup>59</sup>.
4. Las diferencias en los puntos de corte para definir hipofibrinectinemia.

Es difícil establecer puntos de corte para definir hipofibrinectinemia clínicamente significativa. Las concentraciones plasmáticas presentan una dispersión muy amplia y estas concentraciones pueden no necesariamente reflejar la actividad tisular de la proteína, de forma tal que diferentes autores han establecido diferentes puntos arbitrarios como criterios de inclusión<sup>11,13,16,60</sup>. Nuestras incidencias fueron obtenidas tomando en cuenta los valores de corte para hipofibrinectinemia propuestos en material y métodos, aunque nuestros resultados sugieren que éstos valores pueden ser mayores a un punto de corte clínicamente significativo. Se seleccionó el punto de corte para diagnóstico de hipofibrinectinemia por primer cuartil de acuerdo a la distribución de los resultados obtenidos del estudio preliminar realizado en pacientes sanos<sup>44</sup>. La selección del primer cuartil (Q1 ó valores <75% de la media) han sido empleados por otros autores<sup>11</sup> en el estudio de fibrinectina. La selección de este punto de corte, sin embargo, permite la inclusión y tratamiento de pacientes con niveles bajos “normales”, con la posibilidad tanto de diluir los resultados al incluir una población que puede no recibir beneficio adicional del tratamiento, como la posibilidad también de “sobretrotar” y llevar los valores de fibrinectina plasmática a niveles supranormales. Aunque se ha postulado en modelos animales la posibilidad de que el incremento de niveles de fibrinectina fuera de parámetros de referencia puede ser perjudicial<sup>61</sup>, esto no se ha corroborado en estudios en humanos aún con incrementos >200%. En este estudio el aumento máximo en las concentraciones de fibrinectina fue de  $106\% \pm 109$ , con una mediana de 74% y un incremento máximo de 380% con respecto a los niveles de fibrinectina de ingreso. En ningún caso las concentraciones plasmáticas superaron los niveles máximos normales de referencia (máximo alcanzado al día 5 de tratamiento = 1.55 valores Z de fibrinectina para la edad).

En el análisis del estado basal de los grupos las diferencias encontradas son mínimas y no son clínicamente significativas. Se concluye que existe una adecuada comparabilidad en el estado basal entre los grupos de tratamiento.

En la descripción de la población estudiada destacan algunos aspectos clínicos relevantes para la generalización de resultados:

- Edad: La población incluida fué predominantemente menor de 5 años de edad (85.7%); 77.15% del grupo fue menor de 3 años de edad y 48.6% menor de 1 año de edad. Esto probablemente representa una población de mayor riesgo de fenómenos infecciosos y de complicaciones de los mismos.
- Estado nutricional: Tanto las medias como las medianas de la relación talla/edad para la población general se encuentran por debajo de los criterios de normalidad de acuerdo con

las tablas de la NCHS; sin embargo los valores de la relación peso/talla no cumplen criterios de desnutrición aguda en ninguno de los grupos al excluir el estrato específico de desnutrición.

- En el estrato de desnutrición, el porcentaje de pacientes con desnutrición tipo Kwashiorkor es alto, principalmente en el grupo FBN (57.1% vs 33.3% en el grupo control).
- En el estrato de trauma se verifica que todos los pacientes se presentaron con criterios de trauma grave (Score de Tepas <5) y en periodo agudo, con tiempos de evolución  $\leq 1$  día.
- En el estrato de sepsis, el número de criterios positivos fue en promedio de 4, predominando las distermias, la taquipnea, las alteraciones de cuenta leucocitaria y las manifestaciones clínicas inespecíficas.
- En relación a los signos vitales registrados al momento de la inclusión, en más del 50% de los casos el valor reportado para frecuencia cardiaca, tensión arterial o temperatura se encontró dentro de los parámetros de referencia para la edad. En contraste con lo descrito en la literatura, el parámetro clínico más frecuentemente reportado fuera de los valores de referencia para la edad fue la frecuencia respiratoria y no las alteraciones de frecuencia cardiaca. Este comportamiento se conserva en los diferentes estratos diagnósticos, predominando la polipnea y un mayor porcentaje de pacientes con distermias (75 y 55% para los grupos FBN y control respectivamente) en los pacientes con sepsis mientras que en el grupo de desnutrición predomina la hipotermia como manifestación de infección. Se reportaron valores de criterio de gravedad únicamente en 5 pacientes: 3 casos de bradicardia (2 casos grupo FBN (11.1%) y 1 caso grupo control (5.9%)) y 2 casos de hipotensión (1 por grupo, <6% de la población de cada grupo).

En el análisis de resultados la respuesta de variables de impacto por grupo de tratamiento destaca:

- De los pacientes hipofibronectinémicos, entre los pacientes no tratados (grupo control), la frecuencia de fallas terapéuticas fue de 29.4%, en contraste con la frecuencia observada en el grupo de tratamiento (5.6%). (diferencia de 23.8%, con IC<sub>95%</sub> 0.01 – 50%).
- La disminución en el riesgo relativo de falla terapéutica en el grupo de tratamiento es clínicamente relevante (81%).
- La probabilidad de desarrollar falla terapéutica en el grupo control es 7.08:1 con respecto al grupo fibronectina. Los riesgos de mortalidad, choque séptico y FOM fueron respectivamente de 2.26, 3.64 y 5.23 veces mayores en el grupo control con respecto al grupo FBN.

- En el análisis de sobrevida, con tiempo libre de falla terapéutica como variable dependiente, se identificó una diferencia significativa ( $p=0.05$ ) entre grupos de tratamiento a favor del experimental.
- Al comparar el cambio en el porcentaje de riesgo de mortalidad entre la inclusión y el día 5 de estudio por grupo de tratamiento se encuentra diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.006$ ): en el grupo FBN la diferencia media fue de disminución vs en el grupo control, donde la diferencia media fue de incremento.

La falta de precisión en los datos ( $IC_{95\%}$  muy amplios) es atribuible al tamaño muestral.

Estos resultados coinciden otros reportes de la literatura, donde la diferencia en éxitos/ fallas entre los grupos de tratamiento y control ha sido cercana al 30% (Sandberg, sobrevida de 87% vs 56%<sup>13</sup> en pacientes desnutridos; Stevens, 75% vs 42%<sup>62</sup> en pacientes sépticos; Fredell, 84% vs 52%<sup>63</sup> en pacientes desnutridos), o donde se reporta incremento en la curva de sobrevida de los pacientes<sup>16</sup>.

La frecuencia global de eventos de interés, 3 defunciones (8.57% del total de casos), 4 eventos de choque séptico (11.43% del total de los pacientes) y 5 eventos de falla orgánica múltiple (14.28% del total de los pacientes) fue menor en conjunto a otros valores reportados, sin embargo esto engloba los 3 estratos diagnósticos establecidos.

Para FOM en población de pacientes pediátricos críticamente enfermos se reportan frecuencias globales de aproximadamente 27%, generalmente establecida dentro de las primeras 72 hrs y con una mortalidad en los primeros 7 días del 50-55%. En nuestro estudio se registró una frecuencia global de eventos de FOM del 14.28%, con una mortalidad asociada del 60%, sin embargo, al analizar independientemente los estratos diagnósticos se encuentran diferencias importantes: entre los pacientes con desnutrición se registró una frecuencia de FOM global de 23.08% (14.3% de los pacientes del grupo experimental vs 33.3% de los pacientes del grupo control), con una mortalidad global asociada del 66%. Entre los pacientes con diagnóstico de sepsis se registraron 2 eventos de FOM (11.77% del total de pacientes), ambos en el grupo control (22.2% del grupo), con una mortalidad asociada del 50%. No se registraron eventos en el grupo de trauma. El establecimiento de la FOM en nuestro estudio fue más tardío comparado con lo habitualmente reportado; se registró un solo caso de diagnóstico dentro de las primeras 72 hrs de estancia intrahospitalaria (paciente séptico, grupo control), mientras que en los otros 4 casos el diagnóstico de FOM se estableció a los 5, 7, 8 y 8 días de seguimiento (paciente séptico

del grupo control, paciente Kwashiorkor del grupo FBN, paciente desnutrido marasmático del grupo control y paciente Kwashiorkor del grupo control, respectivamente). Así, aparentemente, aunque el número de casos es pequeño para conclusiones definitivas, los casos de sepsis en nuestro grupo desarrollaron FOM más tempranamente que los pacientes desnutridos; el establecimiento de la FOM en los pacientes desnutridos parece ser más tardío de lo reportado para pacientes en general. En los 3 casos asociados a defunción ésta se registró dentro de los primeros 7 días posteriores al diagnóstico de FOM, sin embargo más tempranamente de lo habitualmente reportado: en 1 caso en las primeras 24 hrs (paciente con desnutrición Kwashiorkor, grupo control); en 1 caso 2 días posteriores al diagnóstico (paciente séptico, grupo control) y en un caso 4 días después (paciente con desnutrición Kwashiorkor, grupo FBN). En relación al número de órganos y sistemas con falla, en los pacientes que fallecieron fue de 5 sistemas en 1 paciente (desnutrición tipo Kwashiorkor, grupo FBN, con afección en orden cronológico gastrointestinal, hepática, respiratoria, hematológica y cardiovascular) y de 3 sistemas en 2 pacientes (ambos grupo control, un paciente, desnutrido Kwashiorkor, con afección hematológica, respiratoria y cardiovascular, y un paciente séptico con secuencia de falla neurológica, cardiovascular y respiratoria) en contraste con 2 sistemas afectados en los 2 pacientes que sobrevivieron (ambos grupo control, un paciente séptico con falla hepática y hematológica, y un paciente desnutrido marasmático con falla hematológica y cardiovascular). Así, la mortalidad en nuestros pacientes también correlacionó con el número total de órganos afectados y se asocia más frecuentemente con falla de los sistemas respiratorio y cardiovascular.

Se registró una frecuencia global de eventos de choque séptico del 11.43%. De éstos, los 4 eventos se presentaron en el estrato de desnutrición (40% del total de pacientes del estrato), 1 evento en el grupo experimental (14.3% de los pacientes desnutridos en grupo FBN) y 3 eventos en el grupo control (50% de los pacientes del estrato y grupo). No se registraron eventos de choque séptico entre los pacientes del estrato de sepsis, probablemente secundario a un manejo más temprano o agresivo dado que la sintomatología es más evidente que la que habitualmente presenta el paciente desnutrido, en quienes predominan los datos sutiles e inespecíficos.

En relación a las defunciones, la mortalidad global fue de 8.57%. En el grupo de pacientes con desnutrición la mortalidad fue del 15.39% (14.3% de los pacientes del grupo FBN y 16.7% del grupo control). En el grupo de sepsis la mortalidad global fue del 5.88% (1 caso, en el grupo control -11.1% del grupo-). En los 3 casos de defunción coexistió falla orgánica múltiple y en 2 de ellos, choque séptico (ambos en pacientes desnutridos tipo Kwashiorkor).

Al analizar las fallas terapéuticas por estrato diagnóstico se encuentra que del total de fallas:

- 4 (66.7%) se presentaron en el grupo de desnutrición: 4 fallas terapéuticas en 13 pacientes aleatorizados = 30.8% del estrato diagnóstico (Grupo FBN = 14.3%, vs grupo control = 50%);
- 2 (33.3%) se presentaron entre los pacientes con sepsis: 2 fallas terapéuticas en 17 pacientes aleatorizados = 11.8% del estrato diagnóstico (Ambas en grupo control, 22.2% del grupo); y
- no hubo fallas terapéuticas en los pacientes de trauma.

Ha sido documentado en varias ocasiones que el ayuno y la desnutrición per sé condicionan disminución en las concentraciones de fibronectina<sup>64</sup>, (probablemente por reducción en la síntesis) y algunos estudios, principalmente en modelo animal, han demostrado que la asociación de ayuno y/o desnutrición con sepsis aumenta los efectos deletereos asociados a hipofibronectinemia<sup>65</sup>. En términos generales, los eventos de interés se presentaron en el grupo de pacientes desnutridos con proceso infeccioso (RM 6.29 con intervalo de confianza al 95% 0.94 a 41.97; RR 4.36 con IC95% 0.94 a 20.36) ( $p=0.063$ ).

Dentro del estrato de desnutrición, donde se presentó la incidencia de fallas terapéuticas más alta, es relevante señalar que, de los 4 pacientes con falla, 3 (75%) presentaron desnutrición tipo Kwashiorkor. La frecuencia global de falla terapéutica en los pacientes con desnutrición tipo Kwashiorkor fue del 50% (3 fallas de 6 pacientes incluidos). Al subdividir estos pacientes por grupo de tratamiento encontramos en el grupo de FBN hubo 1 paciente con falla de 4 aleatorizados (frecuencia de falla terapéutica, choque séptico, FOM y mortalidad 25%), mientras que los 2 pacientes aleatorizados con este tipo de desnutrición al grupo control, presentaron falla terapéutica (ambos choque séptico y FOM (100%), 1 defunción (50%)). Por otro lado, de un total de 7 pacientes incluidos con desnutrición marasmática, únicamente uno (14.3%) presentó falla terapéutica, (uno de 4 pacientes marasmáticos (25%) del grupo control, con choque séptico). Los pacientes con desnutrición tipo Kwashiorkor presentaron la falla terapéutica en los primeros 10 días de hospitalización, mientras que el paciente con desnutrición marasmática presentó choque séptico en el día 21 de hospitalización, con sepsis por germen intrahospitalario. Los 4 pacientes desnutridos con falla terapéutica ingresaron con niveles de fibronectina  $\leq 75$ mcg/ml. Aunque el número de pacientes es pequeño para establecer conclusiones definitivas, clínicamente llama la atención la diferencia en comportamiento. En el estudio de Sandberg<sup>13</sup> se reporta una mortalidad de 14 y 13% respectivamente en los pacientes marasmáticos y Kwashiorkor tratados con fibronectina vs 41% de mortalidad en el grupo control de pacientes

Kwashiorkor (no se reporta para pacientes marasmáticos en grupo control por número insuficiente de pacientes para conclusiones) y se reporta la principal incidencia de mortalidad durante la primera semana de tratamiento.

En el análisis multivariado se identifican como variables independientes de mayor peso para la predicción de falla: el grupo de tratamiento, género, estrato diagnóstico, nivel de fibronectina al ingreso, riesgo de mortalidad al ingreso y edad (modelo predice 94.3%,  $p=0.0003$ ). Esta última variable se elimina en el análisis de riesgos proporcionales de Cox ( $p=0.009$ ). En este grupo de variables, llama la atención especialmente la inclusión del género como variable predictora. A pesar de que en pediatría se ha identificado el mayor riesgo del sexo masculino para falla y defunción, esto ha sido reportado generalmente para el grupo neonatal y, en nuestro conocimiento, esto no ha sido descrito para pacientes mayores. Al utilizar género como variable de agrupación se identifica que el efecto de fibronectina es particularmente mayor en el género masculino, creando 4 grupos con comportamiento identificablemente distinto: masculino grupo placebo, femenino grupo placebo, masculino grupo FBN y femenino grupo FBN; el efecto de la maniobra lleva al grupo de pacientes masculinos de un riesgo basal del falla  $>60\%$  en pacientes con FBN inicial baja (masculinos + placebo) a un riesgo basal de falla similar al del grupo de pacientes femeninos control y lleva al grupo de pacientes femeninos de un riesgo basal de falla  $>40\%$  a un riesgo prácticamente de 0. Esta diferencia en comportamientos entre los 4 grupos es también estadísticamente significativa en el análisis de sobrevida ( $p=0.02$ ).

Durante el estudio clínico se observó que las variables de interés (FOM, choque séptico o defunción) se presentaban principalmente en pacientes con niveles de fibronectina al ingreso de  $\leq 80$  mcg/ml independientemente de la edad, (sensibilidad 83.33%, especificidad 95.65%,  $RM=15.71$  ( $IC_{95\%}$  1.56 a 158.21) para determinar falla terapéutica). Al introducir la concentración plasmática de FBN inicial a los modelos multivariados ésta no se identifica como variable predictora al darle manejo como variable continua; sin embargo es identificada al introducirla como variable dicotómica con punto de corte en 80mcg/ml (Valor de  $Exp(B)$  1467.17 en regresión logística, 4328.64 en modelo de Cox). Al realizar las curvas ROC se identificó un nivel estadístico de 77.5 para una sensibilidad y especificidad máximas. Llama la atención que al realizar curvas ROC para identificar un punto de corte con sensibilidad y especificidad similares pero en base a los niveles de fibronectina estandarizados para la edad por valores Z, no se encuentra un valor de corte satisfactorio. Esto obliga a reconsiderar los parámetros de referencia empleados en el estudio para diagnóstico de hipofibronectinemia clínicamente significativa.

Del total de 95 pacientes elegibles iniciales que cumplieron criterios clínicos de gravedad, 18 (19%) tuvieron niveles de fibronectina  $\leq 80$ mcg/ml, y de ellos 11 (61%) presentaron eventos clínicos graves, mientras que solamente 5 pacientes de 76 (6.5%) con fibronectina inicial  $>80$ mcg/ml los presentaron. ( $p < 0.001$ ). La mortalidad entre los pacientes incluidos, con FBN inicial  $\leq 80$ mcg/ml fue de 16.67%.

Este punto de corte permite una mejor identificación los pacientes con mayor riesgo de desarrollar eventos clínicos graves. De igual forma parece que los efectos protectores de la maniobra experimental son de mayor relevancia en esta población:

- Dentro del grupo de pacientes con valores de fibronectina  $\leq 80$ mcg/ml, la frecuencia de fallas terapéuticas fue del 20% para el grupo FBN vs 57.1% para el grupo control. (Reducción del riesgo en 65%; RM 5.3)
- El incremento en el riesgo de mortalidad (inclusión vs día 5) en este grupo de pacientes (fibronectina  $\leq 80$ mcg/ml) fue de 9.5% promedio para el grupo control vs 0.3% en el grupo FBN. Entre los pacientes con fibronectina la ingreso  $>80$ mcg/ml hubo disminución en el riesgo de mortalidad tanto en el grupo FBN como en control.
- En el análisis de Kaplan-Meier se encuentra diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.01$ ), con diferenciación clara en 4 líneas al subdividir los grupos de tratamiento de acuerdo al punto de corte de fibronectina inicial en  $\leq 80$ mcg/ml; se identifica como grupo de mayor riesgo de falla a los pacientes con FBN  $\leq 80$ mcg/ml del grupo control vs un máximo de éxitos en el grupo FBN con FBN inicial  $>80$ mcg/ml.

El comportamiento y valor pronóstico de este punto de corte de fibronectina al ingreso fue similar en los estratos diagnósticos de sepsis y desnutrición (no se registraron pacientes con nivel de FBN inicial  $\leq 80$ mcg/ml en el estrato de trauma).

Estos datos sugieren que el efecto de la maniobra (FBN) es la disminución del riesgo de mortalidad específicamente en el grupo de pacientes con fibronectina inicial  $\leq 80$ mcg/ml.

En base a lo anterior, consideramos que un punto de corte de fibronectina inicial  $\leq 80$ mcg/ml define en forma óptima los pacientes con mayor riesgo de falla (utilidad pronóstica) y por tanto de beneficio potencial del tratamiento. Este punto de corte es menor a lo propuesto en general por otros autores, tanto para población adulta como pediátrica, donde el mínimo sugerido ha sido de  $\leq 100$ mcg/ml<sup>13</sup> (los mismo autores inicialmente propusieron  $\leq 150$ mcg/ml<sup>99</sup>,

disminuyendo su valor de corte en estudios posteriores). Se debe, sin embargo, seleccionar el valor de concentración de fibronectina plasmática de acuerdo a los objetivos clínicos en diferentes situaciones, dependiendo de si se requiere un incremento en la sensibilidad (y por tanto incrementar el valor de corte) o especificidad.

Nuestros resultados apoyan el valor pronóstico de los niveles de fibronectina. Esto ha sido descrito además en múltiples estudios, abarcando un espectro amplio de patologías (sepsis, trauma, quemados, desnutridos) y diferentes puntos de corte; en general se describe una correlación de mayor gravedad de la lesión o sepsis con mayor depleción de fibronectina<sup>13,57,60,63,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75</sup>.

Existe una tendencia sugestiva de correlación significativa entre las concentraciones de FBN al ingreso y los valores de riesgo de mortalidad por PRISM ( $r=-0.31$ ,  $p=0.07$ ) a pesar del tamaño muestral y asociado probablemente a la alta dispersión de los valores de riesgo de mortalidad; no se encontró diferencia significativa en el riesgo de mortalidad entre los grupos de tratamiento a pesar de la diferencia clínica en resultados. Se encontró correlación estadísticamente significativa entre las concentraciones al ingreso de FBN y la falla terapéutica; al manejar la variable de FBN como continua la correlación fue de  $r=-0.357$  ( $p=0.0357$ ) mientras que al manejarla en forma dicotómica con punto de corte en 80mcg/ml la correlación fue de  $r=0.47$  ( $p=0.004$ ).

Se desconoce la mayoría de los factores involucrados en el metabolismo de la fibronectina soluble. De igual forma, el mecanismo exacto de generación de hipofibronectinemia se desconoce, planteándose en general tanto la disminución en la síntesis como el aumento en el catabolismo como causas más probables en la mayoría de los artículos. En adultos críticamente enfermos con hipofibronectinemia se ha determinado que la vida media de esta proteína es similar a la de los adultos sanos, lo que sugiere disminución en las tasas de síntesis durante enfermedad grave o distribución extravascular de la fibronectina<sup>76</sup>.

Consideramos relevante la posibilidad de que, en el paciente crítico, la fibronectina plasmática no necesariamente refleja el nivel de concentración ni actividad tisular de la misma, y que puede existir una mayor redistribución a tejidos más que disminución en la concentración corporal total. Este fenómeno de disociación entre las concentraciones circulantes de proteínas mediadoras y su actividad tisular ya ha sido descrito para varias citocinas, tal como el TNF, cuya actividad parácrina predomina en situaciones de estrés. Este fenómeno puede explicar la falta de correlación entre las maniobras de suplementación y los niveles plasmáticos, así como la falta de correlación entre los niveles plasmáticos al final del tratamiento y el resultado clínico. Esta

hipótesis de consumo o secuestro tisular ha sido planteada en varios estudios y puede estar apoyada por varios fenómenos de relevancia clínica en el paciente grave:

- 1) La fibronectina participa en la cicatrización de heridas, coagulación y depuración inmunológica de detritus y agentes microbianos<sup>76</sup>. Las funciones de la fibronectina soluble incluyen interacciones con múltiples elementos de las cascadas inflamatorias, de la respuesta inmune humoral y celular, con la matriz extracelular y superficies celulares, propias y microbianas, lo que promueve su desplazamiento fuera del espacio intravascular y consumo incrementado en el paciente crítico<sup>59,76,77</sup>.
- 2) La síntesis de la fibronectina, además de ser hepática, se realiza a nivel de células mesenquimatosas, incluyendo fibroblastos y células del endotelio vascular<sup>77</sup>; en el paciente crítico, principalmente en casos de lesión directa, podría predominar la alteración de la síntesis a este nivel<sup>78</sup>.
- 3) La fibronectina se libera directamente a nivel tisular en sitios de inflamación, sintetizada por neutrófilos activados, para sus funciones inmunológicas<sup>76</sup> y se encuentra en altas concentraciones en líquidos inflamatorios (p.e en drenajes de heridas quirúrgicas<sup>79</sup>).
- 4) Tanto la fibronectina insoluble como la plasmática participan en mantener la integridad microvascular a nivel tisular y la permeabilidad vascular<sup>76</sup>, fenómenos centrales en la fisiopatología del paciente crítico en general. La fibronectina plasmática puede ser incorporada al pool tisular y modificar la permeabilidad vascular a través de sus efectos reguladores en la adherencia de neutrófilos al endotelio vascular<sup>76</sup>.
- 5) La fibronectina tiene una marcada afinidad por los componentes del tejido conectivo; además de sus acciones a nivel vascular, interactúa con las cadenas  $\alpha$ -1 de la colágena<sup>76</sup>, principalmente con sus formas desnaturalizadas -gelatina-, y se ha demostrado que, probablemente por esta habilidad, se concentra en los sitios de trauma quirúrgico<sup>80</sup>. Se ha propuesto que por este mecanismo se presenta un importante secuestro de fibronectina a tejidos lesionados por quemadura, que exponen un alto porcentaje de proteína desnaturalizada por calor<sup>57,81,82</sup>. De igual forma la fibronectina puede servir como quimiotáctico y anclaje para fibroblastos, estimulando su replicación; este fenómeno está ligado probablemente a los eventos de cicatrización y fibrosis. En niños con infección por pertussis la hipofibronectinemia puede estar en relación a su difusión y depósito en los espacios bronquiales y alveolares para limitar la infección; gran parte de la fibronectina detectada en los pulmones lesionados es de origen plasmático y en menor proporción sintetizada localmente<sup>83,84</sup>. El descontrol de este proceso podría desencadenar fibrosis pulmonar (reportada p.e en pacientes con broncodisplasia pulmonar).

- 6) La fibronectina se incorpora en la fibrina durante el proceso de coagulación<sup>59</sup> (por esta razón las concentraciones séricas son menores a las plasmáticas). En el paciente crítico, además de eventos de coagulación intravascular diseminada puede haber activación de cascadas de coagulación por numerosas causas. La fibronectina interactúa con el factor XIIIa y las cadenas  $\alpha$  de la fibrina<sup>76</sup>.
- 7) Durante la activación del sistema inmunológico, principalmente de células T e inmunidad celular general, en respuesta a algunas infecciones (p.e. Bordetella pertussis) se incrementan las concentraciones de receptores para fibronectina<sup>83</sup>, lo que también puede determinar mayor disminución de la fibronectina circulante.
- 8) Clínicamente se ha documentado que en los pacientes hipofibronectinémicos, tanto en los que reciben suplementos de FBN como en los no tratados, existe generalmente una recuperación espontánea de las concentraciones de fibronectina en aproximadamente 3-4 días<sup>85</sup>, sin evidencia documentada hasta el momento de incremento en la síntesis hepática. Hay estudios que reportan que de los pacientes hipofibronectinémicos, aquellos que no recibieron tratamiento presentaron recuperación espontánea de las concentraciones séricas en 4 días, mientras que en los que sí lo recibieron alcanzaron niveles estables en 2 días. La falta de recuperación de las concentraciones plasmáticas de fibronectina después de 72 hrs se encuentra asociada a mal pronóstico<sup>86, 87</sup>. En estudios de plasmaféresis donde el volumen intercambiado diariamente fue cercano al volumen total de plasma circulante se encontró que la tasa de disminución diaria de fibronectina plasmática (30-40%) fue mucho menor a la esperada (50-60%). Esto sugiere que existe un flujo continuo de fibronectina desde el compartimento extracelular hacia el espacio intravascular, ya sea por redistribución o síntesis<sup>88</sup>. Algunos estudios proponen que esta recuperación de fibronectina refleja liberación de nueva proteína de células del endotelio vascular como sitio principal de síntesis<sup>89</sup>.

En este estudio en ambos grupos de tratamiento hubo un incremento estadísticamente significativo entre las concentraciones al ingreso y las medidas al 5to día ( $p=0.001$ ), sin diferencia entre los grupos de tratamiento ( $p=0.6$ ). Sin embargo, se realizó la determinación de fibronectina a la inclusión y día 5 únicamente, por lo que en la segunda determinación se puede haber presentado ya este fenómeno de recuperación y a ello atribuirse la falta de diferencia estadística significativa en los niveles de fibronectina entre los grupos de tratamiento al finalizar la maniobra.

En nuestro estudio no se realizaron estudios de cinética; llama la atención clínicamente que entre de pacientes con sepsis la hipofibronectinemia se detectó con mayor frecuencia entre aquellos niños con foco enteral (gastroenteritis) más que en cualquier otro grupo, por lo que no descartamos mayores pérdidas o secuestro a este nivel.

A pesar de que las concentraciones de fibronectina al final del esquema de tratamiento fueron similares en ambos grupos de tratamiento, el riesgo de falla terapéutica fue casi un 25% mayor en el grupo control. Esto puede deberse, como se comentó, a la acción a nivel tisular de la fibronectina, probablemente predominantemente en los pacientes en los que no habría recuperación espontánea de las concentraciones circulantes. El único paciente con falla terapéutica en el grupo FBN no presentó el incremento esperado en el nivel de FBN (60 inicial vs 100 mcg/ml al día 5, aún por debajo de niveles para edad); sin embargo, el incremento promedio de FBN en los pacientes con falla del grupo control fue de 97.5 a 190.6 mcg/ml, por lo que no contamos con suficiente evidencia para apoyar esta última observación.

En el paciente desnutrido o críticamente enfermo sometido a ayuno las deficiencias de vitaminas, principalmente A, y del aporte de carbohidratos pueden también ejercer influencia significativa en el desarrollo de hipofibronectinemia cuantitativa y probablemente cualitativa. La vitamina A controla tanto la tasa de síntesis de la cadena polipeptídica de la fibronectina a través de su RNA mensajero como la tasa de su glicosilación (necesaria para su función)<sup>90</sup>. Esto obliga a profundizar en el estudio de los cofactores necesarios para la actividad de la fibronectina antes de descartar su uso por falta de respuesta en algunos grupos de pacientes.

Además de lo ya abordado para fibronectina, es de hacer notar que las cifras de algunos parámetros de laboratorio (albúmina, complemento), se elevaron tanto en el grupo experimental como en el grupo control. A pesar de que la dosis diaria administrada de albúmina fue pequeña y de que ésta tiene una vida media relativamente larga, se encontró diferencia entre las concentraciones al ingreso y día 5; sin embargo el incremento porcentual fue significativamente mayor en el grupo FBN ( $p=0.006$  vs  $0.08$ ). Esto ha sido reportado por otros autores<sup>11,13,16</sup>, refiriendo que existe evidencia de que la fibronectina actúa promoviendo la síntesis proteica general, cuando menos en el paciente desnutrido severo<sup>13</sup>. La diferencia significativa en los niveles de fibrinógeno al término de la maniobra son directamente atribuibles al uso de crioprecipitados en el grupo experimental. Las concentraciones de fibronectina al ingreso correlacionan significativamente con los valores de fibrinógeno, TNF y complemento y se

encuentra tendencia sugestiva de correlación con los días de estancia intrahospitalaria ( $p=0.08$ ,  $r= - 0.29$ )

El objetivo secundario del estudio fue establecer la correlación entre los niveles de fibronectina y los de TNF e IL-6, con una hipótesis alterna de correlación negativa. Se encontró correlación negativa estadísticamente significativa entre las concentraciones de fibronectina al ingreso y las de factor de necrosis tumoral. No se encontró correlación con interleucina 6.

La fibronectina ha demostrado tener buena correlación con componentes del complemento y factores de la coagulación en otros estudios<sup>11,16,69,76,91</sup>. La actividad de opsonización y unión de fibronectina a complemento puede explicar la disminución de ambas proteínas por consumo y de igual forma mantener la correlación con factores de la coagulación. Las principales correlaciones entre parámetros de laboratorio se encuentran entre los niveles de complemento, factor de necrosis tumoral (TNF), albúmina y fibrinógeno.

La correlación entre los niveles de albúmina y estancia intrahospitalaria (EIH) pueden atribuirse al menos parcialmente a que los pacientes desnutridos, grupo en el que predomina la hipalbuminemia, requirieron de periodos mas prolongados de hospitalización (Pacientes desnutridos en grupo FBN se registró una EIH de  $26.4\pm 16$  días (mediana 25); pacientes del grupo control:  $47.7\pm 31$  días (mediana 51.5)).

Existen múltiples factores que modifican el efecto del tratamiento con fibronectina:

- La diferencia de efectos en diferentes patologías y edades.
- Los diferentes esquemas de tratamiento, considerando tanto dosis, frecuencia y duración del mismo, como la diferente actividad de los suplementos de fibronectina (crioprecipitados vs suplementos purificados).
- En cuanto a la actividad de los suplementos purificados, se debe reconocer la probable variabilidad o deficiencia en la actividad de funciones específicas y a las cuales se atribuyan los efectos clínicos de la fibronectina.
- Cuando se administra la fibronectina a través de crioprecipitados, se debe plantear la probabilidad de que existan cofactores o interrelaciones entre diferentes elementos del mismo crioprecipitado, además de considerar las variables de almacenamiento.
- Dado que el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y sus diferentes complicaciones (incluyendo choque séptico, falla orgánica múltiple y defunción) son resultado en gran

parte de cascadas de eventos inflamatorios, el momento del inicio de tratamiento puede ser crítico en cuanto al resultado o efecto de las diferentes maniobras, principalmente de aquellas encaminadas a modificar el fenómeno inmunológico.

- En el paciente crítico las diferentes maniobras pueden representar diferencias significativas en el pronóstico.

Lo anterior puede explicar cuando menos parcialmente las grandes diferencias en los resultados publicados en la literatura. Por otro lado, se debe tener en cuenta que, además de todos los puntos anteriores que dificultan tanto el estudio de la fibronectina en sí como la comparabilidad de resultados, ésta es un área difícil de investigación, ya que no se han encontrado modelos animales adecuadamente comparables con el ser humano para su estudio básico (los modelos animales utilizados en el estudio del sistema retículo-endotelial tienen una respuesta de fibronectina a la lesión diferente)<sup>18, 64</sup>

El mayor beneficio del tratamiento con fibronectina debe estar en el manejo de pacientes con riesgos intermedios o altos de falla terapéutica (o desarrollo de eventos clínicos graves, incluyendo mortalidad), principalmente si el incremento en el riesgo está relacionado con fenómenos inflamatorios o inmunológicos. En esta población blanco óptima, de acuerdo a los resultados observados en este estudio se encuentran principalmente los pacientes desnutridos y sépticos, masculinos, con fibronectina inicial  $\leq 80$ mcg/ml.

En relación a las particularidades del análisis interim, en la monitorización de datos de seguridad se determinó que la administración de fibronectina a través de crioprecipitados puede realizarse en forma segura por bolo intravenoso rápido. En este estudio no se detectaron efectos colaterales o intolerancia a la maniobra, confirmando lo ya descrito por otros autores<sup>13</sup>.

En cuanto al análisis estadístico, la falta de precisión en los intervalos de confianza de diferentes parámetros está dada por el tamaño muestral. En el análisis secuencial agrupado los datos presentan tendencia al cruce de la frontera de rechazo de  $H_0$  por beneficio de acuerdo al método de función de consumo de  $\alpha$  y O'Brien-Fleming en la comparación de grupos de tratamiento por prueba de  $\chi^2$ ; en los estudios de sobrevivencia, se rebasa la frontera al generar los subgrupos por género o por concentración de fibronectina plasmática inicial, confirmando la significancia estadística de éstos resultados conservando el control de error  $\alpha$ . En el análisis de potencia condicionada se encuentran los valores por debajo de la frontera del 50% de probabilidad de

rechazo de hipótesis nula en la comparación simple entre grupos, mientras que se encuentra una probabilidad del 63% al dividir por género y del 99% de rechazo de hipótesis nula al dividir los grupos de tratamiento por concentración de fibronectina al ingreso con punto de corte en 80mcg/ml.

## *CAPÍTULO V: CONCLUSIONES*

Existe adecuada comparabilidad en el estado basal de los grupos de tratamiento. Los resultados son generalizables de acuerdo a las características clínicas de nuestra población estudiada.

Nuestros resultados sugieren que la incidencia de hipofibrinectinemia en patologías frecuentes en la población pediátrica es alta. Al ingreso el 58.3% de los pacientes con desnutrición grave, marasmática o kwashiorkor, el 40% de los pacientes con trauma severo y el 58.8% de los pacientes con sepsis presentaron hipofibrinectinemia.

Es difícil establecer puntos de corte para definir hipofibrinectinemia clínicamente significativa. Nuestros resultados sugieren que los valores utilizados son mayores a un punto de corte que identifique poblaciones con diferencias clínicamente relevantes.

La administración de fibronectina en estos pacientes mediante crioprecipitados disminuye la incidencia de eventos clínicos graves (reducción hasta del 81%), principalmente la falla orgánica múltiple (reducción del 76.2%), e incrementa la sobrevida libre de falla terapéutica. El riesgo de falla terapéutica fue 7.08 veces mayor en el grupo control; los riesgos por falla específica fueron de 2.23 para muerte, 3.64 para choque y 5.23 veces mayor para FOM en el grupo control.

El comportamiento de la FOM difiere entre los estratos diagnósticos y con lo reportado en la literatura.

El estrato diagnóstico con mayor riesgo de falla fue el de desnutrición, principalmente entre los pacientes con tipo Kwashiorkor. En el estrato de trauma el pronóstico puede estar asociado a otros factores (tamaño muestral insuficiente para obtener conclusiones).

Se confirma el papel pronóstico de las concentraciones plasmáticas de fibronectina al ingreso. Principalmente en los pacientes desnutridos y séptico, la determinación de un nivel de fibronectina plasmática al ingreso  $\leq 80$ mcg/ml conlleva un riesgo para eventos de choque, FOM o muerte de 15.7 veces mayor que los pacientes con niveles  $> 80$ mcg/ml (riesgo relativo de evento clínico grave o falla terapéutica 9.58,  $p=0.012$ ), en los pacientes con diagnóstico de base de sepsis y/o desnutrición severa). En los pacientes con FBN inicial  $\leq 80$ mcg/ml la incidencia de

falla terapéutica fue de 57.1% en el grupo control vs 30% en el grupo FBN (reducción del 65%), con diferencia significativa también en las curvas de supervivencia ( $p=0.01$ ).

Además de la concentración de FBN como elemento pronóstico, nuestros resultados sugieren que el género masculino es un factor pronóstico después del periodo neonatal. (RM general 9.5, 14.9 por modelo de Cox y 16.03 por regresión logística)

La población identificada de mayor riesgo de falla y evento clínico de gravedad es principalmente la de los pacientes masculinos, con desnutrición y/o sepsis, con concentraciones plasmáticas iniciales de fibronectina  $\leq 30$ mcg/ml. Los resultados de este estudio son aplicables principalmente a población pediátrica  $< 5$  años.

La redistribución a tejidos puede ser un mecanismo importante en la fisiopatología de la hipofibrinotemia. Se desconoce el mecanismo exacto de acción de la fibronectina para determinar estos efectos.

Se requiere de mayor estudio para determinar los posibles cofactores en el metabolismo y función de la fibronectina, tanto presentes en la preparación para su suplemento (pe. crioprecipitados) como a nivel plasmático (pe. vitamina A) necesarios para optimizar su efecto en pacientes críticos.

Por lo anterior, consideramos que esta línea de investigación puede replantear los objetivos en cuanto a la población a la que se dirige (estrato de desnutrición y sepsis), así como los valores de punto de corte para determinar hipofibrinotemia clínicamente significativa, a fin de sustentar los efectos clínicos de la FBN y la magnitud de los mismos en la población óptima o con con máximo beneficio potencial del tratamiento.

Aunque la muestra de este estudio hasta el momento es pequeña y con un bajo número de eventos de interés, con lo que no se alcanza significancia estadística mediante todas las pruebas estadísticas de comparación, consideramos que los resultados sugieren diferencias con un efecto importante, corroboran un incremento en la supervivencia libre de falla entre los pacientes tratados, aportan información clínicamente relevante y permiten proponer nuevas hipótesis, ameritando mayor estudio. Se sugiere completar el tamaño muestral calculado.

## GENERACIÓN DE HIPÓTESIS

1. La administración de fibronectina en pacientes críticos con hipofibrinogenemia y patologías comórbidas puede disminuir la incidencia de eventos clínicos de gravedad (choque séptico, FOM o mortalidad) asociadas a procesos infecciosos.
2. La probabilidad de realizar el diagnóstico de hipofibrinogenemia puede estar relacionada con el momento en que se determina la concentración plasmática de la misma, principalmente en patologías aguda (p.e. trauma).
3. La concentración plasmática de fibronectina en el paciente crítico puede no reflejar sus concentraciones corporales totales debido a una mayor distribución tisular.
4. Los efectos clínicos descritos de la fibronectina pueden depender en forma directa o indirecta de cofactores presentes en el crioprecipitado para su función (por lo que no se documentaría este efecto en administración de fibronectina purificada).
5. Hay diferencia pronóstica en la supervivencia de los pacientes críticos y/o en la respuesta a las maniobras terapéuticas entre los géneros después del periodo neonatal.
6. La respuesta inflamatoria sistémica, sepsis y falla orgánica múltiple son eventos multifactoriales y complejos. La alteración en las concentraciones de fibronectina plasmática es sólo uno de sus elementos. Se debe centrar la atención en el fenómeno global como un todo y la necesidad de tratamiento multifactorial simultáneo para obtener resultados que verdaderamente controlen el desarrollo de eventos clínicos graves atribuibles a una respuesta inflamatoria descontrolada.

## *CAPÍTULO VI: LIMITANTES DEL ESTUDIO*

1. La principal limitante del estudio radica en su bajo poder secundario a un tamaño muestral pequeño (Poder= 0.46, calculado para comparación de proporciones y para prueba estadística de  $\chi^2$  y de 0.59 para la comparación de proporciones de grupos independientes, en categorías dicotómicas, a una cola). Se realizó nuevo cálculo muestral para un poder de 80% con los datos actuales, obteniéndose una n requerida de 40 pacientes por grupo. En el análisis secuencial agrupado no se cruza la frontera estadística de rechazo de la hipótesis nula para las pruebas estadísticas por  $\chi^2$ , aunque se muestra tendencia al incremento del valor de la prueba estadística y al cruce de dicha frontera. Se alcanza significancia estadística con control de error  $\alpha$  por método de consumo de  $\alpha$  en las curvas de supervivencia al dividir los grupos de tratamiento por género y por concentración de fibronectina inicial con punto de corte en 80mcg/ml. En las curvas de probabilidad por potencia condicionada se cruza la frontera del 90% para la diferencia entre grupos de tratamiento por concentración de fibronectina inicial con punto de corte en 80mcg/ml.
2. Las conclusiones del grupo de fibronectina (experimental) son atribuibles al empleo de fibronectina a través de crioprecipitados. No podemos extender dichas conclusiones al empleo de FBN purificada.
3. Atribuimos los efectos clínicos encontrados a la acción de la fibronectina, sin embargo estamos conscientes de la posibilidad de que el crioprecipitado contenga otros elementos no descritos responsables de dichos efectos (aunque no existe evidencia de otros componentes del crioprecipitado con acciones inmunológicas) en forma directa o a través de actuar como cofactores necesarios para la función de la fibronectina.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Meert KL, Long M, Kaplan J, Sarnaik AP. Alterations in immune function following head injury in children. *Crit Care Med* 1995; 23: 822-8.
2. Wilkinson JD, Pollack MM, Ruttimann UE, et al. Outcome of pediatric patients with multiple organ system failure. *Crit Care Med* 1986; 14: 271-4.
3. Knaus WA, Draper EA, Wagener DP, Zimmermen JE. Prognosis in acute organ-system failure. *Ann Surg* 1985; 202: 685-93.
4. Fry DE, Pearlstein L, Fulton RL, Polk HC. Multiple system-organ failure: The role of uncontrolled infection. *Arch Surg* 1980; 115: 136-40.
5. Wilkinson JD, Pollack MM, Glass NL, Kanter RK, Katz RW, Steinhart CM. Mortality associated with multiple organ system failure and sepsis in pediatric intensive care unit. *J Pediatr* 1987; 111: 324-8.
6. Proulx F, Gauthier M, Nadeau D, Lacroix J, Farrell CA. Timing and predictors of death in pediatric patients with multiple organ system failure. *Crit Care Med* 1994; 22: 1025-1031.
7. Hynes R. Molecular biology of fibronectin. *Ann Rev Med* 1984;35: 390-420.
8. Proctor RA. Fibronectin: A brief overview of its structure, function, and physiology. *Rev Inf Dis* 1987; 9 (supl4): S 317-21.
9. Mosher DF. Physiology of fibronectin. *Ann Rev Med* 1984; 35: 561-75.
10. McCafferty MH, Lepow M, Saba TM, Cho E, et al. Normal fibronectin levels as a function of age in the pediatric population. *Pediatric Res* 1983; 17: 482-5.
11. Mansberger AR, Doran JA, Treat R, et al. The influence of Fibronectin Administration on the Incidence of Sepsis and Septic Mortality in Severely Injured Patients. *Ann Surg* 1989;210:297-305.
12. Saba TM, Blumenstock FA, Scovill WA, Bernard H. Cryoprecipitate Reversal of Opsonic  $\alpha 2$  Surface Binding Glycoprotein Deficiency in Septic Surgical and Trauma Patients. *Science* 1978;201:622-624.
13. Sanberg LB, Owens AJ, VanReken DE, et al. Improvement in plasma protein concentrations with fibronectin treatment in severe malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1990;52:651-656.

14. Hill HR, Shigeoka AO, Augustine NH, et al. Fibronectine enhances the opsonic and protective activity of monoclonal and polyclonal antibody against group B streptococci. *J Exp Med* 1984; 159: 1618-28.
15. O'Connell MT, Becker DM, Steele BW, Peterson GS, Hellman RL. Plasma fibronectin in medical ICU patients. *Crit Care Med* 1984;12:479-482.
16. Lundsgaard-Hansen P, Doran JE, Rubli E, et al. Purified Fibronectin Administration to Patients with Severe Abdominal Infections. *Ann Surg* 1985; 202:745-758.
17. Akenami FO, Koskiniemi M, Siimes MA, Ekanem EE, Bolarin DM, Vaheiri A. Assessment of plasma fibronectin in malnourished Nigerian children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997 Feb; 24(2): 183-8.
18. Grossman JE. Plasma fibronectin and fibronectin therapy in sepsis and critical illness. *Rev Infect Dis* 1987 Jul; 9 Suppl 4:S420-30.
19. Lin RY, Astiz ME, Saxon JC, Dhanonjoy CS, Rackow EC. Relationship between plasma cytokine concentrations and leukocyte functional antigen expression in patients with sepsis. *Crit Care Med* 1994; 22: 1595-1602.
20. Beutler B, Greenwald D, Hulmes K, et al. Identity of tumor necrosis factor and the macrophage secreted factor cachectin. *Nature* 1985; 316: 552-4.
21. Hasko G, Szabo C, Pastores SM, et al. Isoproterenol inhibits LPS-induced TNF and NO production in raw 264.7 macrophages and in endotoxemic mice. *Crit Care Med* 1997; 25(Suppl): A117
22. Moldawer LL. Biology of proinflammatory cytokines and their antagonists. *Crit Care Med* 1994; 22: S3-7.
23. Lowry SF. Sepsis and its complications: Clinical definitions and therapeutic prospects. *Crit Care Med* 1994; 22: S1-2.
24. Gaudie J, Richards D, Harnish D, Lansdorp P, Bumann H. Interferon beta2/B-cell stimulatory factor type 2 share identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84: 7251-7255.
25. Hilbert DM, Cancro MP, Scherle PA, et al. T-cell derived IL-6 is differentially required for antigen-specific antibody secretion by primary and secondary B cells. *J Immunol* 1989; 143: 4019-24.
26. Holst MA, Raulat J. IL-6 and IL-1 synergize to stimulate IL-2 production and proliferation of peripheral T cells. *J Immunol* 1989; 143: 2514-9.
27. Maruo N, Morita I, Shirao M, Murota S. IL-6 increases endothelial permeability *in vitro*. *Endocrinology* 1992; 131: 710-4.

28. Maruo N, Morita I, Ishizaki Y, Murota S. Inhibitory effects of IL-6 on prostaglandin I<sub>2</sub> production and in cultured bovine vascular endothelial cells. *Arch Biochem Biophys* 1992; 292: 600-4.
29. McMillen MA, Huríbal M, Cunningham ME, Kumar R, Sumpio BE. Endothelin-1 increases intracellular calcium in human monocytes and causes production of interleukin-6. *Crit Care Med* 1995; 23:34-40.
30. Pullicino EA, Carli F, Poole S, et al. The relationship between the circulating concentrations of interleukin-6 (IL-6), Tumor Necrosis Factor (TNF), and the acute phase response to elective surgery and accidental injury. *Lymphokine Res* 1990;9:231-8
31. Hack CE, DeGroot ER, Felt-Bersma RJ, et al. Increased plasma levels of Interleukin-6 in sepsis. *Blood* 1989; 74: 1704-10.
32. Sturk A, Hack CE, Aarden LA, et al. Interleukin-6 release and the acute-phase reaction in patients with acute myocardial infarction: A pilot study. *J Lab Clin Med* 1992; 119: 574-9.
33. Yoshimura N, Oka T, Kahan BD. Sequential determinations of serum interleukin-6 levels as an immunodiagnostic tool to differentiate rejection from nephrotoxicity in renal allograft recipients. *Transplantation* 1991; 51: 172-176.
34. Pos O, van der Stelt ME, Wolbink GJ, et al. Changes in the serum concentration and the glycosylation of human alpha-1 acid glycoprotein and alpha-1 protease inhibitor in severely burned persons: Relation to the interleukin-6 levels. *Clin Exp Immunol* 1990; 82: 579-582.
35. Fong Y, Moldawer LL, Shires GT, Lowry SF. The biologic characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 170: 363-78.
36. Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL-6 and related molecules (IL-1 and TNF). *FASEB J* 1990; 4: 2860-7.
37. Doughty LA, Kaplan SS, Carcillo JA. Inflammatory cytokines and nitric oxide responses in pediatric sepsis and organ failure. *Crit Care Med* 1996; 24: 1137-43.
38. Flammand L, Gosselin J, D'Addario M, et al. Herpesvirus 6 induces interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha, but not interleukin-6, in peripheral blood mononuclear cell cultures. *J Virol* 1991; 65: 5105-10.
39. Englebarts I, von Asmuth EJ, van der Linden CJ, et al. The interrelation between TNF, IL-6 and PAF secretion induced by LPS in an *in vivo* and *in vitro* model. *Lymphokine Cytokine Res* 1991; 10: 127-131.
40. Havell EA, Sehgal PB. Tumor necrosis factor-independent IL-6 production during murine Listeriosis. *J Immunol* 1991; 146: 756-61.

41. Libermann TA, Baltimore D. Activation of interleukin-6 gene expression through the NF-kappa B transcription factor. *Mol Cell Biol* 1990;10: 2327-34.
42. Hesselvik F, Brodin B, Carsson C, et al. Cryoprecipitate infusion fails to improve organ function in septic shock. *Crit Care Med* 1987;15: 475- 483.
43. Maulén-Radován I, Gutiérrez-Castrellón P, Bravo A, Escamilla G. Fibronectina en productos sanguíneos. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1994;51:328-31.
44. Maulén-Radován I, Gutiérrez-Castrellón P. Fibronectina plasmática en pacientes pediátricos. *Rev Invest Clin* 1996;48:105-9.
45. Sibbald WJ, Vincent JL. Round table conference on clinical trials for the treatment of sepsis. *Crit Care Med* 1999; 23: 394-399.
46. Tepas JJ, Bryant M, Molit DL, Talbert JL. The Pediatric Trauma Score as a predictor of injury severity in the injured child. *J Pediatr Surg* 1987; 22 (1) : 14-18.
47. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864-874
48. Hamill PVV, Drizd TA, Johnson CL, et al. Physical growth: national center for health statistics percentiles. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 607-29.
49. Pollack MM, Ruttimann UE, Getson PR. Pediatric risk of mortality (PRISM) score. *Crit Care Med* 1988;16:1110-6
50. Maulén-Radován I, Gutiérrez P, Zaldo R, Martínez O. PRISM Score Evaluation to Predict Outcome in Pediatric Patients on Admission at an Emergency Department. *Arch Med Res* 1996; 27: 553.
51. Bangdiwala SI. Cuando es necesario terminar el estudio anticipadamente. En: *Curso corto sobre diseño, conducción y análisis de experimentos cortos*. LatinCLEN, 1996
52. Task Force of the Working Group on Arrhythmias of the European Society of Cardiology. The early termination of clinical trials: causes, consequences and control. *European Heart J* 1994; 15:721-38.
53. O'Brien PC, Fleming TR. A multiple testing procedure for clinical trials. *Biometrics* 1979; 35:549-56.
54. Davis BR, Hardy RJ. Data monitoring in clinical trials: The case for stochastic curtailment. *J Clin Epidemiol* 1994;47(9):1033-42.
55. Betensky RA. Conditional power calculations for early acceptance of  $H_0$  embedded in sequential tests. *Stat Med* 1997;16:465-77.
56. Bowen M, Muller T. Influence on sample preparation on estimates of blood fibronectin concentration. *Technical Methods* 1982: 233-235

57. Brodin B, von Schenck H, Schildt B, Liljedahl SO. Low plasma fibronectin indicates septicaemia in major burns. *Acta Chir Scand* 1984;150:5-11.
58. Hortells Aznar JL, Ibañez Estella JA, Perez de Vinaspre Adrados S, Atance Martínez JC, Larraz Mur L, Lasierra Díaz MP. Plasma concentrations of fibronectin in septic, hipovolemic and cardiogenic shock. Prognostic usefulness of their variation. *Med Clin (barc)* 1992; 99(5):172-4.
59. Eriksen HO, Clemmensen I, Hansen MS, Ibsen KK. Plasma fibronectin concentration in normal subjects. *Scand J Clin lab Invest* 1982;42:291-5.
60. Sandberg L, VanReken D, Waiwaiku K, et al. Plasma fibronectin levels in acute and recovering malnourished children. *Clin Physiol Biochem* 1985;3:257-64.
61. Aukburg SJ, Kaplan JE. The influence of elevated fibronectin levels during sepsis on the distribution of blood-borne particles. *Adv Shock Res* 1981;6:37-44.
62. Stevens LE, Clemmer TP, Laub RM, Miya F, Robbins L. Fibronectin in severe sepsis. *Surg Gynecol Obstet* 1986;162:222-8.
63. Fredell J, Takyi Y, Gwenigale W, et al. Fibronectin as a possible adjunct in treatment of severe malnutrition. *Lancet* 1987; 2(8565):962.
64. Chadwick SJD, Sim AJW, Dudley HAF. Changes in plasma fibronectin during acute nutritional deprivation in healthy human subjects. *Br J Nutr* 1986;55:7-12.
65. Cheslyn-Curtis S, Aldridge MC, Dudley HA. Effect of acute starvation on plasma fibronectin response to sepsis. *Br J Surg* 1990; 77(2): 199-203.
66. McKone TK, Davis AT, Dean RE. Fibronectin: A new nutritional parameter. *Am Surgeon* 1985; 51:336-9.
67. Brodin B, Briheim G, Cederblad G, Maller R, Schildt B, et al. Plasma fibronectin concentration in suspected septicaemia is related to severity of sepsis. *Acta Chir Scand* 1986;152:721-6.
68. Lanser ME, Saba TM, Scovill WA. Opsonic glucoprotein (plasma fibronectin) levels after burn injury. *Ann Surg* 1980;192:776-782.
69. Rubli E, Buessard S, Frei E, et al. Plasma fibronectin and associated variables in surgical intensive care patients. *Ann Surg* 1983;197:310-7.
70. Kaplan JE, Saba TM. Humoral deficiency and reticuloendothelial depression after traumatic shock. *Am J Physiol* 1976;230:7-14.
71. Kaplan JE, Saba TM. Immunoreactive serum opsonic alpha<sub>2</sub> Sbglycoprotein as a noninvasive index of RES systemic defense after trauma. *Adv Shock res* 1979; 2:83-92.
72. Genestal M, Sie P, Hugot B, et al. Fibronectine plasmatique. Role dans l'infection sévère au réanimation. *Presse Med* 1983; 12:1155-8.

73. Snyder EL, Barash PG, Mosher DF, Walter SD. Plasma fibronectin levels and clinical status in cardiac surgery patients. *J Lab Clin Med* 1983;102:881-9.
74. Mosher DF, Williams M. Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation. *J Lab Clin Med* 1978;91:792-835.
75. Saba TM. Prevention of liver reticuloendothelial systemic host defense failure after surgery by intravenous opsonic glycoprotein therapy. *Ann Surg* 1978;188:142-52.
76. Polin RA. Role of fibronectin in diseases of newborn infants and children. *Rev Infect Dis* 1990;12(S4):S428-38.
77. Gluud C, Dejgaard A, Clemmensen I. Plasma fibronectin concentrations in patients with liver disease. *Scand J Clin Invest* 1983;43:533-7.
78. Shimizu S, Kuratsuji T, Ojima T, Takahashi E. Plasma fibronectin concentrations in mucocutaneous lymph node syndrome. *Arch Dis Child* 1986;61:72-4.
79. Reese AC, Doran JE, Callaway BD, Mansberger AR. Sequestration of fibronectin at the site of an injury. *Adv Shock Res* 1982;8:119-27
80. Kaplan JE, Molnar J, Saba TM, Allen C. Comparative disappearance and localization of isotopically labelled opsonic protein and soluble albumin following surgical trauma. *J Reticuloendothelial Soc*; 1976;20:375.
81. Leclerc F, Martinot A, Beuscart R, Chenaud M, Diependaele JF, et al. Plasma fibronectin in severe infectious purpura of children. *Crit Care Med* 1986; 14(12):1053-4
82. Saba TM, Jaffe E. Plasma fibronectin (opsonic glycoprotein): Its synthesis by vascular endothelial cells and role in cardiopulmonary integrity after trauma as related to reticuloendothelial function. *Am J Med* 1980;68:577-94.
83. Torre D, Giola M, Zeroli C, Martegani R, Bonetta G, et al. Circulating fibronectin and fibronectin receptor in children with pertussis. *J Clin Pathol* 1994;47:793-5.
84. Torikata C, Villiger D, Kihn C, McDonald JA. Ultrastructural distribution of fibronectin in normal and fibrotic human lung. *Lab Invest* 1985;52:399-408.
85. Hortells JL, Ibañez Estella JA, Perez de Vinaspre S, et al Prognostic value of plasma levels of fibronectin in septic shock. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1992; 10(9):531-5.
86. Balona R, Tamavschki R, Baroc D, Belascu I, Georgescu H. Serial analysis of fibronectin concentrations in sera from septic patients. *Med Interne* 88;26(1):85-90.
87. Riordan FA, Restwick K, Thomson AP, Sills JA, Hart CA. Plasma fibronectin levels in meningococcal disease. *Eur J Pediatr* 1997;156(6):451:3.
88. Wahlin A, Holm J, Hansson M, Berghem L. Plasma fibronectin levels during daily plasmapheresis. *Eur J Haematol* 1987;38:39-42.

89. Dionyssiou-Asteriou A, Karavassilis J. Level of plasma fibronectin in patients with peripheral ascular disease. *Clinica Chimica Acta* 1985;152:79-83.
90. Kirven MJ, Wolf G. Synthesis and glycosylation of fibronectin in hepatocytes from vitamin A-deficient rats. *Mol Cell Biochem* 1991;101:101-114.
91. Brodin B, Hesselvik F, Bloembäck M, et al. Fibronectin and other DIC-related variables in patients with moderately severe infections receiving cryoprecipitate. *Scand J Clin Lab Invest* 1985; 45(Suppl 178):57-65.

## ANEXO 1

### A. SCORE PRISM (\*)<sup>49</sup>

PARAMETRO	GRUPO DE RIESGO		PUNTOS
	LACTANTES	MAYORES	
Tensión arterial sistólica (mmHg)	130-160	150-200	2
	55-65	65-75	2
	>160	>200	6
	40-54	60-64	6
	<40	<50	7
Tensión arterial diastólica	>110	>110	2
Frecuencia cardíaca (latidos por minuto)	>160	>160	4
	<90	<80	4
Frecuencia respiratoria (ciclos por minuto)	61-90	51-70	1
	>90	>70	6
	Apnea	Apnea	6
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	200-300	200-300	2
	<200	<200	3
PaCO <sub>2</sub> (mmHg)	51-65	51-65	1
	>65	>65	5
Glasgow	<8	<8	6
Respuesta pupilar	Anisocoria ó midriasis Fijas y midriáticas	Anisocoria ó midriasis Fijas y midriáticas	4
			10
Tiempo de protrombina	> 1.5 veces control	> 1.5 veces control	2
Bilirrubina total (mg/dl)	>3.5 en > 1 mes		6
Potasio sérico (mEq/l)	3.0-3.5	3.0-3.5	1
	6.5-7.5	6.5-7.5	1
	<3.0	<3.0	5
	>7.5	>7.5	5
Calcio sérico (mg/l)	7.0-8.0	7.0-8.0	2
	12.0-15.0	12.0-15.0	2
	<7.0	<7.0	6
	>15.0	>15.0	8
Glucosa sérica (mg/dl)	40-60	40-60	4
	250-400	250-400	4
	<40	<40	8
	>400	>400	8
Bicarbonato sérico (mEq/l)	<16	<16	3
	>32	>32	3

## ANEXO 2.

Fecha \_\_\_\_\_

## HOJA DE CONSENTIMIENTO

**“EFICACIA DE FIBRONECTINA COMO COADYUVANTE EN EL TRATAMIENTO DE NIÑOS HIPOFIBRONECTINÉMICOS CON SEPSIS, TRAUMA SEVERO O DESNUTRICIÓN.”**

Este es un estudio de la utilidad de un suero, obtenido de la sangre, en el tratamiento de niños desnutridos, con infecciones, o con traumatismos. El tratamiento consistirá en administrar suero cada día por 4 días, aunado a los demás tratamientos de su hijo, como antibióticos, alimentación mas conveniente, y todos los demás medicamentos requeridos.

Queremos averiguar si el suero con proteína albúmina es igual al suero con proteína fibronectina; es decir, si hay mas resistencia a infecciones y menos complicaciones, o ambos son iguales. Otros estudios han mostrado que el suero con proteína fibronectina puede ser mejor.

Las posibles complicaciones por el uso de sueros derivados de la sangre pueden ser reacciones alérgicas o infecciones. No esperamos tener ninguna complicación ni riesgo por el uso de sueros, ya que en todos los Bancos de Sangre, y también en este Instituto se efectúan pruebas para saber si la sangre es segura y no tiene infecciones. Su niño actualmente tiene baja la fibronectina en sangre, relacionado a su enfermedad de base (trauma, septicemia o desnutrición) por lo que estará internado hasta que se hayan resuelto sus problemas.

Haremos determinaciones de sangre y orina. Todos los datos que obtengamos serán confidenciales, y solo serán conocidos por los investigadores, nunca divulgaremos esta información con nombres u otra identificación que afecte a su hijo.

Si usted acepta participar firme abajo; si no desea participar puede negarse y recibirá de todas maneras la atención acostumbrada del Hospital. Aunque este participando usted puede retirarse del estudio cuando lo desee. Si lo desea puede solicitar una copia de este documento a cualquiera de los investigadores responsables.

Atentamente

Dra. I. Maulén. Dra. N. F.Revilla

Nombre del niño \_\_\_\_\_

Nombre del responsable \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

Testigo: \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

Testigo: \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_

### ANEXO 3.

#### COMITÉS DE INVESTIGACIÓN

##### A) COMITÉ DE MONITORIZACIÓN DE DATOS Y SEGURIDAD

Las responsabilidades de este comité incluyen:

- La evaluación regular de los resúmenes de reclutamiento, comparabilidad de los grupos, oportunidad y exactitud de la recolección de datos, número y naturaleza de efectos adversos, tasas de mortalidad. Esta evaluación se hará independiente de la comparación de tratamientos
- Realizar el análisis interim bajo las especificaciones señaladas en el inciso correspondiente y evaluar la consistencia de estos datos en forma interna (entre las diferentes variables primarias y entre subgrupos) y externa (con otros estudios).
- Emitir recomendaciones de terminación temprana del estudio si se rebasan los límites preestablecidos de significancia estadística y/o se cumple cualquiera de los criterios de terminación del estudio.
- El comité tendrá la posibilidad de solicitar que se abra la codificación de asignación de grupo si así considera conveniente.

##### B) COMITÉ INVESTIGADOR RESPONSABLE

Este comité estará integrado por los siguientes miembros:

- Dra. Irene E. Maulén Radován: Tutor del proyecto.
- Dra. Nuria Francisco-Revilla Estivill: Alumno, Investigador responsable de la evaluación clínica.

Las responsabilidades de este comité incluyen:

- Las decisiones clínicas en referencia a la inclusión, exclusión y eliminación de pacientes, a la evaluación de las variables primarias y secundarias y a la suspensión del estudio.
- La evaluación de las recomendaciones del comité de monitorización de datos y seguridad
- La decisión de romper el código de aleatorización
- El análisis administrativo y de consideraciones de información externa
- La decisión última de la terminación del estudio