

11249



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POST-GRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

27

CAMBIOS EN LOS VALORES PLASMATICOS DEL
FNT-α E INTERLEUCINA 1-β,
EN EL RECIEN NACIDO A TERMINO.

TESIS DE POSTGRADO
PRESENTA:
DRA. ENEDINA VILLAGOMEZ ORTIZ
PARA OBTENER EL GRADO DE:
SUBESPECIALISTA EN NEONATOLOGIA

TUTOR: DR HECTOR ALFREDO BAPTISTA GONZALEZ
TITULAR: DR. MOISES MORALES SUAREZ.



MEXICO, D. F.

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

2001

Handwritten signature/initials



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.

*A mi madre y a mi hermana por la paciencia de la lejanía  
y saber que están conmigo.  
por ser el mejor motivo para mi superación.....*

*A toda mi familia por su amor y apoyo incondicional.....*

*A mi asesor el Dr. Héctor Baptista ejemplo de trabajo  
y conocimiento, quien hizo posible este estudio.....*

Cambios en los valores plasmáticos de FNT $\alpha$  e IL1 $\beta$  en  
RNT.

***CAMBIOS EN LOS VALORES PLASMÁTICOS DEL***

***FNT- $\alpha$  E INTERLEUCINA 1- $\beta$ ,***

***EN EL RECIEN NACIDO A TÉRMINO .***

**Tesis de especialidad en:**

***NEONATOLOGÍA***

**Autor:** Dra. Enedina Villagómez Ortiz

**Asesor:** Dr. Héctor Alfredo Baptista González

## ÍNDICE

|                                   | <b>página</b> |
|-----------------------------------|---------------|
| <b>1. Resumen.....</b>            | <b>3</b>      |
| <b>2. Introducción.....</b>       | <b>5</b>      |
| <b>3. Justificación.....</b>      | <b>13</b>     |
| <b>4. Objetivos.....</b>          | <b>14</b>     |
| <b>5. Diseño del estudio.....</b> | <b>15</b>     |
| <b>6. Material y Métodos.....</b> | <b>16</b>     |
| <b>7. Resultados.....</b>         | <b>21</b>     |
| <b>8. Tablas y Gráficas.....</b>  | <b>24</b>     |
| <b>9. Figura.....</b>             | <b>30</b>     |
| <b>10. Discusión.....</b>         | <b>31</b>     |
| <b>11. Conclusiones.....</b>      | <b>35</b>     |
| <b>12. Bibliografía.....</b>      | <b>36</b>     |

## RESUMEN:

Mediante un modelo estudio prospectivo, descriptivo y longitudinal, se recolectaron las muestras séricas de neonatos de término con bajo riesgo perinatal, atendidos en la unidad de cuidados inmediatos al recién nacido.

Las muestras sanguíneas del cordón umbilical, se obtuvieron al nacimiento, a la hora y a las 24 horas de vida, con el fin de describir los cambios en las concentraciones séricas de las interleucinas (FNT $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ), establecer la asociación entre ambas, y evaluar la influencia que en ellas tiene la vía de nacimiento, sexo, edad gestacional y peso.

Se obtuvieron los resultados de 110 pacientes, de los cuales nacieron por cesárea 69 (63%) y 41 (37%) por vía vaginal y el peso promedio fue de  $3,252 \pm 398$ gr.

Los niveles de FNT $\alpha$  fueron de  $7.4 \pm 12.6$  pg/ml al nacimiento,  $8.7 \pm 16.9$  pg/ml a la hora de vida y  $9.3 \pm 15.8$  pg/ml a las 24 horas.

En cuanto a IL-1 $\beta$  al nacimiento se encontraron valores de  $1.1 \pm 1.8$  pg/ml, a la hora  $1.3 \pm 3$  pg/ml y a las 24 horas,  $0.7 \pm 1.3$  pg/ml.

En cuanto a vía de nacimiento se encontraron valores más altos de FNT $\alpha$  en aquellos pacientes que nacieron por

parto (11.9 pg/ml), en comparación con aquellos que nacieron por cesárea (4.7 pg/ml). No hubo diferencias en las concentraciones de IL-1 $\beta$  (1 y 1.3 pg/ml) respectivamente. Y los valores máximos para cada una de las citocinas fue diferente encontrando el valor pico para FNT $\alpha$  a las 24 horas y para IL-1 $\beta$  a la hora de vida.

**CONCLUSIONES:** Solo se encontró diferencia estadística significativa en los valores de FNT $\alpha$  al nacimiento, con mayor incremento en los pacientes que nacieron por vía vaginal, probablemente sea secundario al traumatismo inherente al nacimiento. Se establecen valores de referencia en una muestra de neonatos de término con bajo riesgo perinatal.

## INTRODUCCION

Las citocinas son péptidos que median la respuesta del huésped a la agresión o infección. Han cobrado un papel importante en diversas condiciones clínicas infecciosas, inmunológicas, inflamatorias y en eventos de hipoxia-isquemia/reperfusión.

Como citocinas se incluyen el factor de necrosis tumoral alfa (FNT  $\alpha$ ), la interleucina 1 (IL-1), la IL-6, la IL-8 y otras mas que pueden interactuar de diversas maneras con una gran variedad de células, principalmente con los leucocitos polimorfonucleares (PMN) y las células endoteliales para romper la homeostasis. Cada una de ellas puede ser producida por distintos tipos de células en muchas partes del organismo y una gran variedad de células es capaz de responder a una determinada citocina.

Los cambios en las concentraciones séricas de algunas interleucinas se han asociado como indicadores durante la infección intrauterina, parto pretérmino, infección neonatal o daño cerebral en el neonato.

El nacimiento es un evento asfíctico por excelencia y es un ejemplo categórico en la reperfusión multiorgánica. El daño por reperfusión se manifiesta por lesión a la microvasculatura, mediante la activación de neutrófilos, liberación de citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-6 y FNT  $\alpha$ ), liberación de aminoácidos excitadores y radicales libres de oxígeno.

Las citocinas son polipéptidos producidos principalmente por monocitos, macrófagos y células T, que regulan la respuesta inmunológica, controlan la inflamación cicatrizal y pueden producir fiebre.<sup>(1,8)</sup> Penetran a la circulación y actúan sobre órganos distantes y por esta razón se les consideran hormonas. Las citocinas mejor conocidas son IL-1, IL-2, factor de necrosis tumoral alfa (FNT $\alpha$ ), interferón (INF) y factor estimulante de colonias granulocito/macrófago (GM-CSF).<sup>(1,2,8,30,31)</sup>.

Las citocinas con efectos predominantemente biológicos (p. eje IL-1 $\beta$ , FNT- $\alpha$ ) se agrupan como proinflamatorios primarios. Sus antagonistas naturales se denominan citocinas antiinflamatorias e incluyen a la IL-4 e IL-6.

Las interleucinas son citocinas, que al determinarse su secuencia de aminoácidos, se les asigna un número. Si no se conoce dicha secuencia, entonces se les nombra según sus propiedades biológicas. En la actualidad se conocen 13 interleucinas.<sup>(1,29,31)</sup>.

## INTERLEUCINA 1 (IL-1)

Fue identificada primero por Gerry y Waksman, como una citocina y se demostró que era idéntica al pirógeno endógeno <sup>(1)</sup>. Se almacena en forma inactiva en el citoplasma de células secretoras y mediante acción enzimática se convierte en una forma activa antes de ser liberada a través de la membrana celular hacia la circulación.

El riñón es el principal sitio para eliminarla. Consta de 3 polipéptidos estructuralmente relacionados, dos agonistas: Interleucina 1 alfa (IL-1A) e Interleucina 1 beta (IL-1B), y un antagonista: Interleucina 1 receptor antagonista.

Los macrófagos constituyen la principal fuente de IL-1, pero las células Kupffer de hígado, queratinocitos, células de Langerhans en páncreas y astrocitos también la producen. En el tejido cerebral, la interleucina 1L-1 producida por astrocitos puede contribuir a las respuestas inmunológicas dentro del sistema nervioso central (SNC) y a la fiebre secundaria a hemorragia en el mismo <sup>(8,9)</sup>.

La IL-1B es un monómero de 18 kD, tiene múltiples funciones: <sup>(ver anexo 1)</sup>. La función primaria es inducir fiebre al actuar sobre el hipotálamo. Desempeña un papel esencial en la proliferación y activación de células T (previamente conocido como factor activador de linfocitos ó LAF) y en la proliferación y activación de células  $\beta$  (antes conocido como factor activador de células Beta ó

BAF).

Induce la síntesis hepática de ciertas proteínas como fibrinógeno, haptoglobina, ceruloplasmina y proteína C reactiva (PCR). Disminuye la síntesis de albúmina y transferrina. Desempeña un papel primario en la inducción de la respuesta inflamatoria, con acumulación y adherencia de neutrófilos, y cambios vasculares. Aumenta la actividad de los osteoclastos para estimular la resorción ósea. Estimula la producción de colagenasa y prostaglandina E<sub>2</sub><sup>(PGE<sub>2</sub>)</sup>. Es causa de destrucción de las células ( $\beta$ ) en pacientes con diabetes dependiente de insulina y en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.<sup>(32,33)</sup>.

#### FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (FNT $\alpha$ )

Es una citocina con múltiples funciones biológicas, se identificó originalmente como un mediador de la necrosis tumoral presente en el suero de animales tratados con lipopolisacáridos (principal mediador de las respuestas del huésped frente a las bacterias).<sup>(3,4,9,10)</sup>.

La principal fuente celular del FNT- $\alpha$  es en el fagocito mononuclear activado, pero también lo producen las células NK, mastocitos activados, células Kupffer del hígado y la oligodendroglia. El cuerpo lo produce como respuesta a estímulos invasivos ó dañinos. Actúa como estimulante de la producción de IL-1 e incrementa la

quimiotaxis de macrófagos y neutrófilos aumentando su actividad fagocitaria y citotóxica.<sup>(21,26)</sup>

Se sintetiza inicialmente como una proteína de transmembrana no glicosilada de aproximadamente 25 kD. Las acciones de ésta citocina se inician por la unión a los receptores de la superficie celular.

Hay dos receptores diferentes del FNT- $\alpha$ , cada uno codificado por un gen separado; se sintetiza en grandes cantidades y puede saturar fácilmente sus receptores, los cuales se encuentran en casi todos los tipos celulares examinados.<sup>(6,12,13,15,16).</sup>

Sus acciones biológicas se comprenden mejor en función de su cantidad considerándose valores normales en recién nacidos de 0.8 a 19 pg/ml.<sup>(1,3).</sup>

Las principales acciones del FNT- $\alpha$ , cuando se presenta en bajas concentraciones séricas incluyen:

- ◆ Producir la expresión de moléculas de adhesión ICAM-1.
- ◆ Activar a los leucocitos inflamatorios para fagocitar microorganismos.
- ◆ Estimular a los fagocitos mononucleares y a otros tipos celulares a producir citocinas como la IL-1 $\beta$ , IL-6, el propio FNT- $\alpha$  y quimiocinas.
- ◆ Ejerce efecto protector similar al del interferón contra los virus, potenciando la lisis de bacterias infectadas por virus.

Por el contrario, las principales acciones de FNT- $\alpha$ , cuando se presenta concentraciones séricas medias, son:

- ◆ Actuar sobre las células de regiones reguladoras del hipotálamo, para inducir fiebre provocada por una síntesis aumentada de prostaglandinas en las células hipotalámicas (pirógeno- endógeno).
- ◆ Actuar sobre los fagocitos mononucleares y sobre las células endoteliales vasculares para estimular la secreción de IL-1 $\beta$  e IL-6 a la circulación.
- ◆ Lesionar el endotelio e incrementa la permeabilidad vascular, principalmente a nivel pulmonar.
- ◆ Actuar sobre los hepatocitos para aumentar la síntesis de ciertas proteínas séricas derivadas del hepatocito, constituyendo la respuesta de fase aguda.
- ◆ Suprimir la división de la célula madre de la médula ósea.

Por el contrario, las principales acciones de FNT- $\alpha$ , cuando se presenta concentraciones séricas elevadas son:

- ◆ Reducir el riego sanguíneo tisular, deprimiendo la contractilidad miocárdica. Esta acción implica la inducción de una enzima en los miocitos cardiacos denominada sintetasa de óxido nítrico (NOS) que convierte la arginina en citrulina y ON, ocasionando éste último vasodilatación y disminución de la contractilidad miocárdica.

- ◆ Reduce aún más la tensión arterial y el riego sanguíneo por relajación del tono del músculo liso.
- ◆ Estimula directamente las células musculares para producción de vasodilatadores como la prostaciclina y ON por las células endoteliales vasculares.<sup>(8,9,17,19,23)</sup>.
- ◆ Produce trombosis intravascular, lo que reduce el riego sanguíneo tisular.
- ◆ Produce alteraciones metabólicas, entre las cuales está la disminución de la glucosa sanguínea, dada la utilización excesiva de glucosa por el músculo e incapacidad del hígado para reemplazarla.<sup>(18,20,30)</sup>.

Para ejercer su función las citocinas necesitan unirse a receptores de membrana en las células blanco. Estos receptores son glicoproteínas de membrana, compuestas generalmente por varias subunidades, las cuales a menudo son compartidas por más de un receptor, cuya función es transmitir las señales de activación al interior celular.

Además de estos receptores de membrana, hay en el suero grandes cantidades de receptores solubles para distintas citocinas, con la misma afinidad de unión por su ligando que los receptores de membrana.

Posiblemente la función de éstos receptores solubles sea la de regular la propia actividad de las citocinas en la respuesta inmune.<sup>(6,7,16)</sup>

Hagberg y Gilland en 1996, demostraron que posterior a la hipoxia, isquemia y reperusión la IL-1 $\beta$  es

activada por FNT- $\alpha$  y otras interleucinas, regulando la adhesión de moléculas reclutando neutrófilos, monocitos, linfocitos y además libera componentes neurotóxicos, aminoácidos excitatorios, óxido nítrico, radicales libres de oxígeno y citocinas neurotóxicas, con el consecuente daño secundario.<sup>(9,10,11)</sup>.

## **JUSTIFICACION:**

Los problemas de hipoxia isquemia/reperfusión, son una de las patologías que con mayor frecuencia se presentan en la población neonatal.

La etiología es multifactorial y su importancia radica en que las principales secuelas, son neurológicas hasta en el 20% de los casos de seguimiento.

Hasta el momento se han realizado diversos estudios en los cuales se correlacionan los niveles de citocinas proinflamatorias (FNT- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6) en procesos infecciosos.

Sin embargo se conoce poco acerca del comportamiento de estas citocinas en neonatos sanos y su relación con el trauma el trauma natural del nacimiento.

Lo anterior debe permitir establecer el comportamiento de la IL-1 $\beta$  y el FNT- $\alpha$ , para considerar su posterior evaluación como indicador sensible de daño tisular.

## **OBJETIVOS:**

- ◆ Describir los cambios en las concentraciones séricas del FNT  $\alpha$  e IL-1 $\beta$  en pacientes recién nacidos de bajo riesgo al nacimiento, a la hora y las 24 horas de vida.
- ◆ Establecer la asociación entre los cambios serológicos del FNT  $\alpha$  e IL-1 $\beta$ .
- ◆ Evaluar la influencia de la vía de nacimiento sobre las concentraciones séricas de FNT  $\alpha$  e IL-1 $\beta$

## **DISEÑO DEL ESTUDIO:**

Se designó el modelo de estudio siguiente:

- ◆ Descriptivo.- por no tener variables experimentales.
- ◆ prospectivo.- por captarse de novo los pacientes.
- ◆ longitudinal.- por tener tres momentos diferentes de evaluación.

## MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron las muestras séricas de neonatos atendidos en la unidad de cuidados inmediatos al recién nacido en el Instituto Nacional de perinatología en el periodo comprendido de septiembre de 1997 a Enero de 1998,

Para seleccionar a los pacientes se utilizaron los siguientes criterios de inclusión:

- ◆ Neonatos nacidos en el INPer.
- ◆ La Edad gestacional entre 37 y 41.6 semanas, determinado por método de Capurro/ FUM (Fecha de última menstruación).
- ◆ Apgar  $\geq 7$  al minuto de vida.

Se excluyeron a los casos en que fueron aplicables los siguientes criterios:

- ◆ Neonatos productos de madres con datos clínicos de corioamnioitis .
- ◆ Neonatos con malformaciones congénitas mayores.
- ◆ Ruptura prematura de membranas mayor de 24 hrs de evolución.
- ◆ Sin patología sistémica identificada al nacimiento o durante el periodo de estudio.

Los criterios de eliminación fueron:

- ◆ Neonatos que fallecieron dentro de las siguientes 12 horas al nacimiento.
- ◆ Neonatos en quienes no se obtuvieron las 3 muestras completas (cordón, hora de vida, y 24 horas).
- ◆ Solicitud de los padres para retirar a su hijo del estudio.

En la unidad de tococirugía fueron evaluadas las madres que potencialmente pudieran ingresar al estudio, ahí mismo se procedió a la aplicación de los criterios de aceptación o rechazo.

Las muestras de sangre del neonato se obtuvieron al nacimiento del extremo fetal del cordón umbilical la primera muestra y mediante punción en vena periférica a la hora y a las 24 horas de vida.

Las muestras de sangre total (0.7 ml. aproximadamente) se recolectaron en tubos de polipropileno sin gel separador o aditivos como la heparina, para evitar los cambios sobre las concentraciones de citocinas, dependientes de estas variables.

Inmediatamente se separó el plasma mediante centrifugación a 3500 r.p.m. durante 10 minutos, se prepararon cuando menos en dos alícuotas y fueron congeladas a menos 70 °C hasta el momento en que fueron estudiadas simultáneamente.

En una hoja de recolección de datos, se concentró la información sobre las siguientes variables: edad

gestacional, sexo, peso al nacer, vía de nacimiento, niveles plasmáticos del FNT $\alpha$  e interleucina 1  $\beta$ .

En la cuantificación del FNT- $\alpha$ , se empleó un reactivo de marca comercial (Genzyme), mediante la técnica de microELISA, que emplea un anticuerpo monoclonal de ratón y conjugado de peroxidasa de rábano, con lectura de absorbancia a 450 nm. En cada corrida se realizó una curva de calibración cuando menos con 6 calibradores.

Para la IL-1 $\beta$ , se empleó igualmente un reactivo de marca comercial (Genzyme), por técnica de microELISA en técnica de doble anticuerpo. El primer anticuerpo es de origen policlonal, mientras que el segundo anticuerpo anti-IgG, originado en conejo, se empleó como substrato peroxidasa y se cuantificó la absorbancia a 450 nm. Se empleó un calibrador conocido con diluciones progresivas hasta poder construir una curva de calibración de cuando menos 4 puntos.

En ambos casos se incluyeron cuando menos dos muestras control, con valores conocidos alto y bajo.

### TAMAÑO DE LA MUESTRA:

se empleó la fórmula de tamaño de proporciones

$$n = \frac{N}{1 + N (\epsilon \epsilon)^2}$$

N= 6000 (universo)

ee=0.1 (error estándar)

$$n = \frac{6000}{1 + 6000 (.01)}$$

n= 6000 = 98 pacientes

61

La metodología estadística para la evaluación de los resultados, incluyó: en la fase descriptiva se emplearon las medidas de tendencia central para las variables numéricas (peso, edad gestacional). En la fase analítica, se aplicó la prueba paramétrica de comparación de promedios, para establecer la diferencia entre los valores de las citocinas dependientes de las variables de vía de nacimiento. Se aplicó el análisis de varianza para establecer la relación entre las concentraciones de citocinas y las diferentes edades al momento de la toma de la muestra. Se considero para el estudio un intervalo de confiabilidad de 95%. y nivel de significancia menor a 0.05. Para fines de presentación se elaboraron las gráficas de los valores promedios del FNT $\alpha$  y de IL-1 $\beta$ .

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de ética del Instituto; Debido a que se recolectaron muestras de sangre por punción venosa, se consideró que el estudio significaría un procedimiento de riesgo mayor al mínimo, por lo que se obtuvo el consentimiento informado de los padres, como responsables legales de cada recién nacido.

## RESULTADOS

Se estudiaron en total 110 neonatos, los datos de toda la muestra señalan que la distribución de género fue de 59 casos (54%) del sexo masculino y 51 (46%) de sexo femenino. En cuanto a la vía de nacimiento (cuadro 1). 41 (37%), nacieron por vía vaginal y 69 (63%) nacieron por cesárea. La edad gestacional promedio fue de  $39.1 \pm 1.1$  semanas (amplitud de 37 a 41.6 semanas). En cuanto al peso se obtuvo una media de  $3,252 \pm 398$  g. (amplitud de 2,660gr-4,770gr).

En cuanto a los niveles séricos de FNT- $\alpha$ , cuantificados al nacimiento, a la hora de vida y a las 24 horas de vida. Se encontró que al nacimiento el valor de FNT $\alpha$  promedio fue de  $7.4 \pm 12.6$ , con un intervalo de confianza del 95 % entre 4.4 a 10.2 (amplitud de 0-60 pg/ml). A la hora de vida, promedio de  $8.7 \pm 16.9$ , con intervalo de confianza de 5.9 a 11.9, (amplitud de 0 a 124 pg/ml) y a las 24 horas de vida, con promedio de  $9.3 \pm 15.8$ , con intervalo de confianza de 6.5 a 12.3, (amplitud de 0 a 110 pg/ml). No se observaron diferencias estadísticas al aplicar en análisis de varianza (cuadro 2).

De la misma manera se midieron las concentraciones séricas de IL-1 $\beta$ : al nacimiento se encontraron niveles promedio de  $1.1 \pm 1.8$  pg/ml, con intervalo de confianza del 95 % entre 0.5 a 1.6 (amplitud de 0 a 14 pg/ml). A la

hora de vida se encontró: promedio de  $1.3 \pm 3.0$  pg/ml, con intervalo de confianza de 0.7 a 1.9 (amplitud de 0 a 18 pg/ml); y a las 24 horas un promedio de  $0.7 \pm 1.3$  pg/ml, con intervalo de confianza de 0.4 a 1.6 (amplitud de 0 a 8 pg/ml). Siendo el valor máximo el encontrado a la hora de vida extrauterina, sin evidenciar diferencias estadísticas al aplicar en anova (cuadro 3)

Por medio de análisis de varianza se compararon los valores encontrados en las tres determinaciones, contrastándose con las variables de edad gestacional y vía de nacimiento. Con respecto a la edad gestacional, no hubo diferencia significativa en ninguna de las tres determinaciones de FNT $\alpha$  o de IL-1 $\beta$ .

En cuanto a la vía de nacimiento se encontró diferencia significativa en la primera y segunda determinación de FNT $\alpha$ , encontrándose valores más altos, en aquellos pacientes que nacieron por parto en comparación con aquellos que nacieron por cesárea, 11.9 vs 4.7 pg/mL, para parto y cesárea, respectivamente. En el resto de las variables no se encontró diferencia significativa (Cuadro 4)

A la edad en que se presentaron los valores máximos para cada una de las citocinas fue diferente. Para el FNT- $\alpha$ , el valor pico se observó a las 24 horas, mientras que para la IL-1 $\beta$ , los valores máximos se obtuvieron a la hora de vida (Cuadro 4).

Se presentan los cambios en las concentraciones séricas de ambas citocinas en las tres determinaciones (figura 1 y figura 2).

## TABLAS Y GRAFICAS

**CUADRO 1.**  
**CARACTERISTICAS GENERALES DE LA MUESTRA**

| CATEGORIA                      | RESULTADOS       |
|--------------------------------|------------------|
| Femeninos n<br>(%)             | 51<br>(46)       |
| Masculinos n<br>(%)            | 59<br>(54)       |
| Parto n<br>(%)                 | 41<br>(37)       |
| Cesarea n<br>(%)               | 69<br>(63)       |
| Peso<br>(g)*                   | 3,252<br>+/- 398 |
| Edad gestacional<br>(semanas)* | 39.1<br>+/- 1.1  |

\* promedio y desvío estándar

**CUADRO 2.  
CAMBIOS EN LAS CONCENTRACIONES  
PLASMATICAS DE FNT- $\alpha$**

| EDAD             | Valores en pg/mL *        |
|------------------|---------------------------|
| Al nacer         | 7.4 +/- 12.6 (4.4 a 10.2) |
| Una hora de vida | 8.7 +/- 16.9 (5.9 a 11.9) |
| 24 hrs. de vida  | 9.3 +/- 15.8 (6.5 a 12.3) |

\*promedio, ds e intervalo de confianza del 95 %.  
anova: ns

**CUADRO 3**  
**CAMBIOS EN LAS CONCENTRACIONES**  
**PLASMATICAS DE IL-1 $\beta$**

| EDAD             | Valores en pg/ml.* |             |
|------------------|--------------------|-------------|
| Al nacer         | 1.1 +/- 1.8        | (0.5 a 1.6) |
| Una hora de vida | 1.3 +/- 3.0        | (0.7 a 1.9) |
| 24 hrs. de vida  | 0.7 +/- 1.3        | (0.4 a 1.6) |

\* promedio, ds, e intervalo de confianza del 95%  
anova: ns

**CUADRO 4.**  
**CONCENTRACION DE INTERLEUCINAS Y VIA DE**  
**NACIMIENTO**

| CONCENTRACION<br>MEDIA         | TIEMPO DE VIDA            |                         |                        |
|--------------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|
|                                | Al nacer                  | Una hora                | 24 hrs.                |
| <b>FNT-<math>\alpha</math></b> |                           |                         |                        |
| Parto                          | 11.9*<br>(8.13 a<br>15.3) | 13.6<br>(8.5 a<br>18.7) | 9.0<br>(4.1 a<br>14)   |
| Cesárea                        | 4.7*<br>(1.8 a<br>7.6)    | 5.8<br>(1.8 a<br>9.8)   | 9.4<br>(5.6 a<br>13.2) |
| <b>IL-1 <math>\beta</math></b> |                           |                         |                        |
| Parto                          | 1.0<br>(0.38 a<br>1.6)    | 1.7<br>(0.9 a<br>2.6)   | 0.9<br>(0.4<br>a1.3)   |
| Cesárea                        | 1.3<br>(0.8 a<br>1.8)     | 0.9<br>(0.2 a<br>1.6)   | 0.6<br>(0.3 a<br>1.0)  |

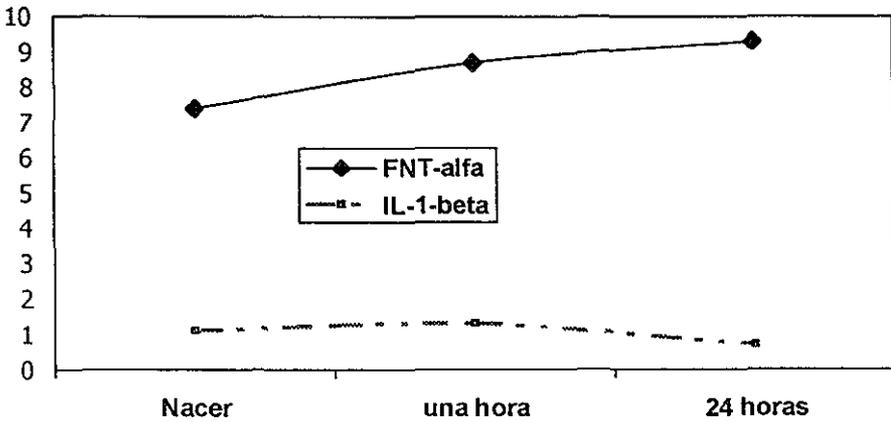
\* f = 5.6, t = 0.01

**CUADRO 5.  
VALORES DE FNT- $\alpha$  E IL- $\beta$  EN DIFERENTES  
CONDICIONES DE ENFERMEDAD**

| AUTOR                   | Condición                      | Citocina     | Valores (pg/ml) |
|-------------------------|--------------------------------|--------------|-----------------|
| Grant y cols(29)        | Sanos                          | FNT $\alpha$ | 38 $\pm$ 9      |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 10 $\pm$ 5.4    |
|                         | Post operados (día 3)          | FNT $\alpha$ | 43 $\pm$ 13     |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 20 $\pm$ 4.7    |
| Laurie Miller y cols(2) | Sanos                          | FNT $\alpha$ | 89 $\pm$ 9      |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 142 $\pm$ 68    |
|                         | Complicaciones no infecciosas* | FNT $\alpha$ | 102 $\pm$ 10    |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 288 $\pm$ 42    |
|                         | Infectados                     | FNT $\alpha$ | 36 $\pm$ 12     |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | No detectable   |
| Bont y cols(21)         | Sanos                          | FNT $\alpha$ | 36 $\pm$ 4      |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 7 $\pm$ 1       |
|                         | Septicos                       | FNT $\alpha$ | 560 $\pm$ 234   |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 18 $\pm$ 5      |
| Mancilla y cols(31)     | Sanos                          | FNT $\alpha$ | 239 $\pm$ 7.5   |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 214 $\pm$ 16    |
|                         | Sépticos                       | FNT $\alpha$ | 290 $\pm$ 13.2  |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 319 $\pm$ 34.5  |
| Viscardi y cols(33)     | Sanos                          | FNT $\alpha$ | 11 $\pm$ 3      |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 21.6 $\pm$ 6    |
|                         | NEC                            | FNT $\alpha$ | 36 $\pm$ 9      |
|                         |                                | IL-1 $\beta$ | 45 $\pm$ 8.6    |

\*meconio, dificultad respiratoria, preeclampsia

**Gráfica 1**  
**Cambios en las concentraciones de FNT- $\alpha$  e IL-  
1 $\beta$ ,**  
**en las primeras 24 horas de vida**



ESTADÍSTICA DE LA  
DE LA

Figura

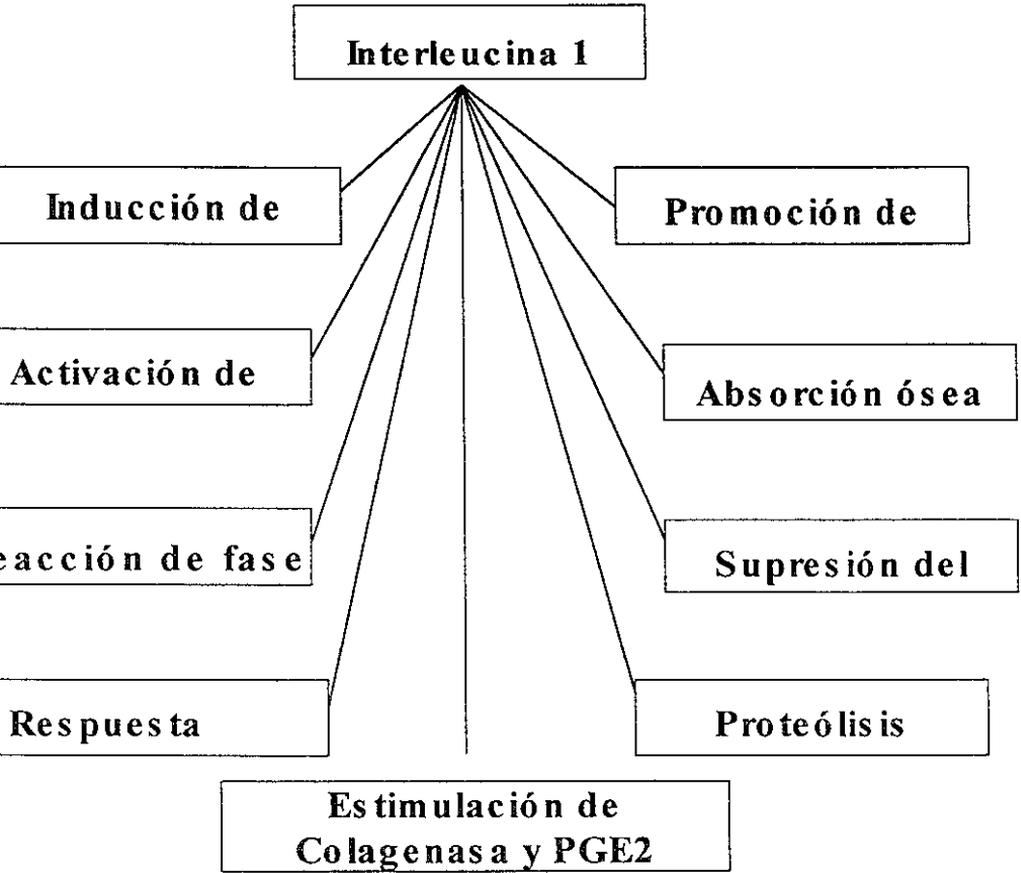


Figura 1. FUNCIONES DE INTERLEUCINA 1

## DISCUSION:

La respuesta inmunológica e inflamatoria está regulada por citocinas, éstas son producidas por las células activadas e incluyen: interleucinas, interferón, factor de necrosis tumoral y factores de crecimiento hematopoyético.<sup>(29)</sup>

Grant y Cols. es su estudio afirman que la respuesta inmune del neonato es dependiente de factores innatos o no específicos (barreras epiteliales especializadas, lizosima, Ph de las mucosas, epitelio ciliado, neutrófilos, PMN y complemento); y factores adaptativos ó específicos (macrófagos, linfocitos activados, factores humorales y citocinas).<sup>(30)</sup>

En el presente estudio se investigaron los niveles séricos de interleucinas, específicamente FNT $\alpha$  e IL-1 $\beta$  en una población de neonatos del INPer. En muestras del cordón (al nacimiento), a la hora de vida y a las 24horas, para establecer valores de referencia en el RN.

Los valores encontrados de FNT $\alpha$  en su mayoría caen en promedio de 8.4 pg/ml (con la técnica desarrollada en nuestra unidad). Lo cual concuerda con lo reportado por Aytug y Atici y cols. en donde refieren como valores normales 4.4 -89.9 pg/ml .<sup>(4)</sup>

Sin embargo nuestros resultados difieren de lo descrito por otros autores, quienes no encontraron correlación de los valores obtenidos con la vía de nacimiento.<sup>(2)</sup>

No así en nuestro estudio observamos valores mayores en la población que nació por parto, en comparación con los valores encontrados en aquellos que nacieron por vía cesárea. Probablemente ésto se deba a que estos autores dividieron al tipo de parto en natural o inducido. Y sus valores mayores estuvieron en relación al parto inducido. Sin embargo, no podemos descartar que el traumatismo inherente al nacimiento por la vía vaginal, que es mayor que en los que nacen por vía abdominal, sea el mecanismo único capaz de provocar el aumento en las concentraciones séricas de FNT- $\alpha$ . Aunque finalmente estos valores, están dentro de los esperado y muy lejos de los observados por diferentes autores en condiciones de enfermedad (cuadro 5).

En cuanto a los valores de IL-1 $\beta$  se observaron como promedio 1.2 pg/ml en la mayoría de los pacientes y como valor máximo 8 a la hora de vida, lo cual concuerda con lo descrito por Reyes y Cols., quienes reportan que posterior a algún evento de estrés el incremento máximo de esta citocina ocurre a las 2hrs <sup>(9)</sup> Laurie y Cols. reportan que los niveles de ésta interleucina están en relación con el tipo de nacimiento y la severidad de las complicaciones perinatales.<sup>(2)</sup>

Ya que ellos encontraron niveles mayores en aquellos pacientes que nacieron por parto vaginal inducido y cesárea de urgencia.

Mancilla realizó un estudio previo en una población del instituto en donde obtuvo valores más altos, que los encontrados en nuestro estudio<sup>(32)</sup>. Pero que aún así caen dentro del rango de normalidad y sugiere que en ausencia de infección, las concentraciones circulantes de ambas citocinas en la sangre del neonato, no difieren de los valores plasmáticos encontrados en la madre. Creemos que la diferencia más importante radica en que Mancilla estudió pacientes con patologías específicas, además de la diferencia notable en el procesamiento y conservación de las muestras de suero, pues el tipo de anticoagulante, el material del tubo colector, el tiempo de separación del plasma y células nucleadas, tiempo de procesamiento, son algunas de las variables preanalíticas que modifican sustancialmente los valores observados de las interleucinas (33). Estas condiciones preanalíticas, fueron estandarizadas y controladas en nuestro estudio. Por ejemplo la muestra sanguínea, inmediatamente se centrifugó para evitar la activación que sufren los monocitos posterior a la recolección de la sangre, es decir el aumento in vitro de las interleucinas. Por esta razón nuestros valores fueron menores.

La importancia de nuestro estudio radica en que una vez evaluadas algunas de las condiciones que modifican los valores esperados de ambas citocinas en población

neonatal de bajo riesgo perinatal, puedan servir como valores de referencia a utilizarse en el futuro como marcadores para aquellos neonatos que son expuestos a cualquier tipo de estrés en el periodo perinatal

## CONCLUSIONES:

- ◆ Los rangos de normalidad para nuestro grupo de estudio son en promedio: Para FNT $\alpha$  7.3 pg/ml al nacimiento; 8.8 pg/ml a la hora de vida y 9.3 pg/ml a las 24hrs de vida.
- ◆ Para IL-1 $\beta$ : 1.1 pg/ml al nacimiento, 1.3 pg/ml a la hora y 1.0 pg/ml a las 24hrs. No se encontró diferencia significativa en ninguna de las tres determinaciones.
- ◆ No hubo diferencia significativa entre los valores y las variables: peso, sexo, edad gestacional.
- ◆ Solo se encontró diferencia estadística significativa en los valores de FNT $\alpha$  al nacimiento, con mayor incremento en los pacientes que nacieron por vía vaginal.
- ◆ Se establecen los valores poblacionales en una muestra de neonatos con bajo riesgo perinatal.

## BIBLIOGRAFIA:

1. El Radhi Carroll. Fisiopatología de la fiebre, Fiebre en pediatría.;Mac Graw interamericana. Venezuela 1a. edición. vol. 1:46-60.
2. Laurie C. Miller, Sana Isa .Neonatal interleukin-1 $\beta$ ,Interleukin-6 and tumor necrosis factor:Cord blood levels and cellular production. J Pediatr 1990; 117:961-4.
3. Olaf Damman and Alan Leviton.R. Maternal intrauterine infection,cytokines, and brain damage in the preterm New born. Pediatr Res 1997; 42:1-8.
4. Aytug Atici, Mehemet Satar. Serum Tumor necrosis factor  $\alpha$  in neonatal sepsis.Am J Perinatol.1997;14:401-3.
5. Bo Hyun Yoon, Roberto Romero. High expression of Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  and interleukin-6 in periventricular Leukomalacia. Am J. Obstet Gynecol.1997; 177:406-11.
6. Blanco,G. Solis,E. Arranz. Serum Levels of CD14 in Neonatal Sepsis by Gram-Positive and Gram- Negative Bacteria. Acta Paediatr.1996;85:728-32.
7. Takashi Ichiyama,Takashi Hayashi.Levels Of Transforming Growth factor  $\beta$ 1,Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  ,and Interleukin 6 in cerebrospinal fluid:Association with Clinical Outcome for Children With Bacterial Meningitis. Clin Infect Dis.1997; 25:328-9.
8. Abbas A.K. Linchtman A. Mecanismos efectores de las respuestas inmunitarias. Inmunología celular y molecular. Edit. Panamericana México, 1a edición. 2:80-9.
9. G. Reyes, L. Liorente. Sepsis y choque Séptico:Nuevas modalidades Terapéuticas. Infalamicación,1992;93: 523-36.
10. Javier Mancilla, José Arredondo. Interleucina-1,Interleucina-6 y Factor de Necrosis tumoral en sepsis Neonatal. Perinatol. Reprod. Hum. 1996; 10:230-7.
11. Strieter R, Kunkel S. Role Of Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  In Disease States and Inflammation. Crit Care Med.1993;21:447-63.
12. J. Messer. D. Eyer. Evaluation Of Interleukin-6 and Soluble receptors of Tumor Necrosis Factor for early diagnosis Of neonatal infection. Jr Pediatr. 1996; 129: 574-80.
13. M. Linderholm, C. Ahlm. Elevated Plasma Levels Of tumor Necrosis factor  $\alpha$  ,soluble FNT receptors, Interleukin -6, and IL-10 in Patients with Hemorrhagic fever with renal syndrome. Jr Infect Dis.1996; 173: 38-43.

14. Kornelisse H.J. Savelkoul. Interleukin-10, and soluble Tumor Necrosis Factor Receptors in cerebrospinal fluid of Children With Bacterial Meningitis. *Jr Infect. Dis.* 1996; 173:1498-502.
15. María París, R. Fiedland. Effect of Interleukin-1 Receptor antagonista and soluble Tumor Necrosis factor receptor In animals Models Of Infección. *Jr of Infect. Dis.* 1995; 171: 16-9.
16. Tom Van Der Poll, Eva Fisher. Interleukin-1 contributes to increased concentrations of soluble Tumor Necrosis Factor receptor Type I in Sepsis. *Jr infect Dis* .1995; 172: 577-80.
17. D. Russell, K. Tucker. Combined Inhibition of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor in Rodent Endotoxemia: Improved Survival and Organ Function. *Jr Infect Dis.* 1995; 171: 1528-38.
18. M. Netea, W. Blok. Pharmacologic Inhibitors of Tumor Necrosis Factor Production Exert Differential Effects in Lethal Endotoxemia and in Infection With Live Microorganisms in Mice. *Jr Infect Dis* 1995;171: 393-9.
19. Louis Saravolatz, Janice Wherry. Clinical Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of Murine Monoclonal antibody to Human Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ . *Jr Infect Dis.* 1994; 169:214-7.
20. Tom Vand Der Poll, Sander Deventer. Tumor Necrosis Factor is Involved in the Appearance of Interleukin-1 receptor antagonist in Endotoxemia. *Jr Infect Dis* . 1994;169: 665-7.
- E. Bont, A. Martens. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$ , and Interleukin-6 plasma levels in Neonatal Sepsis. *Pediatr Res.* 1993; 33: 380-3.
21. Cornelis Wortel, Marijke M. Effectiveness of a Human monoclonal anti-endotoxin antibody (HA-1A) in Gram Negative Sepsis: Relationship to endotoxin and Cytókinine Levels. *Jr Infect Dis.* 1992;166 :1367-74.
22. Donato Torre. Levels of Interleukin-8 in patients Whith adult respiratory distress Syndrome. *Jr Infect Dis.* 1993;167:505-6.
23. M. Glimaker, P. Kraysbjerg. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  in cerebrospinal Fluid from Patients with Meningitis of diferent Etiologies: High Levels of FNT  $\alpha$  indicate Bacterial Meningitis. *Jr of Infect Dis.* 1993;167:882-9.

24. Tom Vander Poll, J. Jansen. Release of Soluble receptors for Tumor Necrosis Factor in Clinical Sepsis and experimental Endotoxemia. *Jr of Infect Dis* 1993; 168: 955-60.
25. Janice C. Wherry ,James E. Pennington . Tumor Necrosis Factor and The Therapeutic potential of anti-tumor Necrosis Factor antibodies. *Crit Care Med.* 1993;21: 436-40.
26. S. Okusawa, J. Gelfand. Interleukin 1 induces a Shock-Like state in Rabbits. *Jr Clin Invest* .01998; 81: 1162-72.
27. E. Jorges & D. Henderson. Inflammatory and Immunological Markers in preterm infants; Correlation With disease. *Clin Exp Immunol* 1996; 105: 551-5.
28. H. Grant. A. Chuturgoon. The Adaptive immune response to major surgery in the neonate. *Pediatr Surg Int.*1997; 12:490-3.
29. José Regueiro, Carlos López. Citocinas. *Inmunología Biología y Patología del sistema inmune.* 1996, Edit. Panamericana. 14: 97-102.
30. Mancilla Ramirez, Arredondo García. Interleucina 1, Interleucina -6 y Factor de necrosis tumoral en sepsis neonatal. *Perinatol reprod Hum* 1996; 10: 230-7.
31. Thayasu PW, Longhurst S. Measuring cytokine in blood. Importance of anticoagulants, procesing, and storage conditions. *J Immunol Methods.* 1992; 153: 115-24.
32. Rose M. Viscardi,Chen-Chin. Inflammatory cytokine mRNAs in surgical specimens of necrotizing enterocolitis and normal newborn intestine. *Pediatr Pathol Lab Med.* 1997; 17:547-59.