

## Expertos Invitados

### ● NEUMONIA ASOCIADA A VENTILACION MECANICA EN UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DE PEDIATRIA



Columnista Experto de SIIC  
**Dr. Olimpio Rodríguez Santos**

Prof. Adjunto Metodología de la Investigación. Especialista de II Grado Alergología. Campo de especialización: Alergología.

#### Introducción

Entre las entidades que más se producen por deterioro de los mecanismos de defensa, se destacan las neumonías nosocomiales (NN), y entre ellas, la neumonía asociada a la ventilación mecánica (NAV). La NAV es una complicación que presenta elevada incidencia y morbimortalidad, con características muy particulares que la distinguen de la neumonía nosocomial en pacientes no intubados. En pediatría, la neumonía intrahospitalaria se ubica entre el primer y el segundo lugar entre todas las infecciones hospitalarias registradas, hecho que depende del tipo de hospital y del porcentaje de procedimientos invasivos utilizados para diagnóstico.

La NAV constituye la primera y principal infección nosocomial en las unidades de cuidados intensivos (UCI),<sup>1,2</sup> se asocia con mayor morbilidad y mortalidad, prolongación de la estancia hospitalaria y aumento de costos. Desde hace 20 años es un tema recurrente por su frecuencia, su gravedad y por sus implicaciones etiológicas y terapéuticas.<sup>3,4</sup> Por ello, en los últimos años se observa un interés creciente por el conocimiento de su etiopatogenia, el perfeccionamiento de las técnicas diagnósticas, la microbiología y la valoración de la eficacia terapéutica de los nuevos antimicrobianos.<sup>5</sup>

La NAV se define como la neumonía nosocomial que se desarrolla después de 48 horas de la intubación por vía endotraqueal y la aplicación de ventilación mecánica (VM) y que no estaba presente ni en período de incubación en el momento del ingreso, o que es diagnosticada en las 72 horas siguientes a la extubación y retiro de la VM.<sup>6,7-13</sup>

En relación con la etiología y el pronóstico, la NAV se clasifica en precoz o tardía, con incidencia diferente.<sup>14</sup> La NAV denominada precoz es la que aparece en los primeros 4 días de estadía en UCI y se presenta en el 52% de los casos. El resto, 48% de NN adquiridas en la UCI a partir del quinto día, es la llamada NAV tardía. Según distintos autores se estima el riesgo de aparición de una NN en 10.3%, 18% y 32%, a los 5, a los 10 y a los 29 días, respectivamente.

Los factores de riesgo relacionados con la NAV se clasifican en intrínsecos, cuando están relacionados con el paciente, y extrínsecos, que son los referidos a la VM, al cuidado de las vías aéreas y al manejo del paciente en UCI.<sup>15</sup>

Como factores intrínsecos o predisponentes dependientes del enfermo, se encuentran la edad, la gravedad de la enfermedad de base y algunas categorías diagnósticas como cirugía, traumatismo o patología respiratoria crónica, la disminución del nivel de conciencia o sus equivalentes, como la alteración del reflejo de deglución y la aspiración de un volumen importante de contenido gástrico. Con relación a la terapéutica (factores extrínsecos), la intubación y la ventilación mecánica (VM) por períodos superiores a 24 horas parecen los más importantes, quedan en un segundo término la profilaxis de la hemorragia digestiva y los antibióticos, que podrían alterar la flora habitual, sustituyéndola por microorganismos más patógenos y resistentes.<sup>16</sup>

Estos factores de riesgo tienen como común denominador el favorecer la colonización bacteriana y alterar las barreras de defensa que tienen los pulmones. Debemos destacar entre ellos, en primer lugar, la duración de la estadía en la UCI, que va acompañada de mayor porcentaje de infecciones

respiratorias, especialmente si se somete al enfermo a distintas técnicas de instrumentación en las vías respiratorias altas. Estas exploraciones endoscópicas de las vías respiratorias y gastroesofágicas, la intubación orotraqueal o nasotraqueal y las sondas nasogástricas permanentes alteran los primeros mecanismos de defensa del aparato respiratorio y favorecen las microaspiraciones de contenido orofaríngeo o, en su caso, de contenido gástrico, debido a la disfunción del esfínter gastroesofágico.

La flora habitual de la secreción ácida gástrica también puede alterarse. En circunstancias ordinarias el estómago no contiene microorganismos viables, siempre que el pH del jugo gástrico permanezca muy ácido (pH 2 a 3). Cualquier factor o mecanismo puede alterar el pH gástrico, como por ejemplo las aquilias orgánicas o transitorias, las enfermedades propias del estómago o del intestino, sobre todo la obstrucción alta del intestino delgado que permite el reflujo hacia el estómago de secreciones alcalinas procedentes del duodeno y yeyuno. Otro factor es la administración de antiácidos o receptores anti-H<sub>2</sub> que antagonizan la acción de la histamina por bloqueo competitivo y selectivo de esos receptores, elevando el pH del jugo gástrico y perdiendo éste su carácter bactericida.<sup>17,18</sup> En todas estas circunstancias, el contenido bacteriano del estómago se modifica y refleja el patrón ecológico de la orofaringe, lo que a su vez favorece la aparición de bacterias aerobias y anaerobias gramnegativas. Asimismo se demostró en diversos estudios que el estómago de los enfermos graves puede ser colonizado por gérmenes gramnegativos.<sup>19</sup>

Existen otras fuentes alternativas de gramnegativos, las más importantes son: grifos, fregaderos, vertederos, ventiladores, nebulizadores, humidificadores, unidades de aire acondicionado, alimentos, bañeras, cuñas, cuartos de almacenaje, soluciones intravenosas, catéteres, sondas y tubos orotraqueales. Es obvio que son fuentes potenciales, pero limitadas, de agentes bacterianos, sin embargo tienen un común denominador, la humedad y cierta dificultad para su limpieza, sobre todo los aparatos y complementos para la respiración artificial.<sup>20</sup>

El estado de nutrición previa, la estancia prolongada en UCI, el tipo de cirugía (torácica, maxilofacial y abdominal alta) son causantes del 22% al 26% de las NAV, porcentajes muy superiores a los observados en áreas generales.<sup>20,21</sup>

La intubación y su duración favorecen el desarrollo de este tipo de infecciones.<sup>22,23</sup> La VM reduce la eficacia de los golpes de tos, con la consiguiente necesidad de aspiraciones traqueobronquiales frecuentes, lo que inevitablemente eleva el riesgo de infección. Los equipos de nebulización como los humidificadores se pueden contaminar y favorecer la multiplicación de bacilos gramnegativos, constituyéndose en un mecanismo de transmisión, especialmente si están conectados y aplicados directamente a enfermos intubados o traqueostomizados. Las microaspiraciones de contenido orofaríngeo, incluso de líquido gástrico, en determinadas circunstancias<sup>24</sup> son eliminadas por los propios mecanismos de defensa pulmonar o, por el contrario, proliferan localmente y originan una verdadera neumonía. Las microaspiraciones se consideran un fenómeno importante, casi el 45% de la población normal las tienen durante el sueño,<sup>25</sup> llegando al 80% en los enfermos con alguna alteración de la conciencia.

El desarrollo de microorganismos gramnegativos en la orofaringe y el jugo gástrico es favorecido por la alteración de la flora habitual o del pH gástrico inducida por los diferentes factores predisponentes y la antibioterapia previa.<sup>26,27</sup>

El estómago juega un papel primordial como fuente de infección en la NAV. Existe una serie de hechos que avalan esta circunstancia fisiopatológica, si bien para algunos autores es un tema controvertido.<sup>28</sup>

En Cuba se informa que la NAV es un tipo particular de infección nosocomial frecuente en los pacientes críticos y se asocia con altas tasas de morbilidad y mortalidad.<sup>29</sup> Su origen es polimicrobiano y depende de múltiples factores de riesgo como edad, días de ventilación, poca movilización, alcalinización gástrica, trauma, coma y uso de medicamentos como sedantes y bloqueantes, entre otros. Las estrategias fundamentales para la prevención de esta entidad tienen como objetivo reducir el impacto de los factores de riesgo ya sea intrínsecos o extrínsecos.<sup>30-34</sup>

### **Material y métodos**

Se realizó un estudio longitudinal, descriptivo, retrospectivo en la UCI del Hospital Pediátrico Provincial "Eduardo Agramonte Piña", de Camagüey, con el objetivo de conocer los casos de NAV. El universo de estudio estuvo constituido por los pacientes ventilados en dicha unidad. La muestra fueron aquellos que desarrollaron NAV, para un 99% de nivel de confianza.

Para la recolección de la información se utilizó la historia clínica del hospital y una encuesta confeccionada al efecto que se aplicó a la muestra.

Las variables de estudio fueron: niños ventilados; neumonía asociada a la ventilación mecánica;

edad (< 1 año, 1 a 5 años, 6 a 10 años, 11 a 15 años); sexo; gravedad de la NAV (leve, moderada, grave); patologías por las cuales se indicó ventilación mecánica (ARDS, politraumatismos y trauma craneoencefálico, malformaciones congénitas, sepsis grave, shock e intoxicación exógena); tiempo de aparición de los síntomas (< 48 horas, 48 a 72 horas, 4 a 6 días, 7 a 9 días, más de 10 días); patógenos aislados (*Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, estafilococos coagulasa negativos, *Acinetobacter*); antimicrobianos (cefalosporinas, vancomicina, ciprofloxacina, aminoglucósido, ampicilina, fosfocina cloranfenicol, meropenem); evolución (vivos, fallecidos).

Para el tamaño de la muestra se utilizó el programa Stacalc de Epiinfo versión 6 con un nivel de confianza de 99.99%. Para el procesamiento de los datos se utilizó el programa Analysis de Epiinfo versión 6, en la distribución de frecuencias, porcentajes, media y probabilidad.

### Resultados

En 141 niños ventilados en el trienio 2000–2002 se encontraron 35 con NAV para un 24.82%, con una media de 11.6 por año de estudio (cuadro 1).

Distribución por años de estudio de los niños que recibieron ventilación mecánica y de los que presentaron NAV

Año	Ventilados	NAV	Porcentaje	No NAV	Porcentaje
2000	48	11	22.92	37	77.08
2001	54	5	9.26	49	90.74
2002	39	19	48.72	20	51.28
Total	141	35	24.82	106	75.18

Media de NAV 11.6

En el cuadro 2 se observa que en los pacientes con NAV predominaron los de 11 a 15 años y los menores de un año (37.1% y 31.4%, respectivamente).

Distribución de los pacientes con NAV según edad

Edad	Número	Porcentaje
Menor de un año	11	31.4
1 a 5 años	7	20
6 a 10 años	4	11.4
11 a 15 años	13	37.1
Total	35	100

En cuanto al sexo, como se observa en el cuadro 3, predominaron los varones, con 62.8% ( $p = 0.017$ ).

Distribución de pacientes con NAV según sexo

Sexo	Número	Porcentaje
Femenino	13	37.1
Masculino	22	62.8
Total	35	100

$P = 0.017$

En el cuadro 4 se aprecia que no hubo diferencias significativas según la gravedad de la NAV ( $p > 0.05$ ).

Distribución de los pacientes con NAV según grados de severidad.

Clasificación	Número	Porcentaje
Leve	-	-
Moderada	16	45.7
Severa	19	54.2
Total	35	100

$p > 0.05$

Con relación a la patología por la cual se indicó ventilación mecánica, en el cuadro 5 se observa que predominaron los politraumatismos y traumas craneoencefálicos, con el 40% de los casos ( $p = 0.04$ ).

Distribución de pacientes con NAV en el periodo de estudio según patología por la cual se indicó ventilación mecánica asistida

Patologías	Número	Porcentaje
ARDS	3	8.5
Politraumas y Trauma Cráneo Encefálico	14	40.0
Malformaciones Congénitas	3	8.5
Infección Respiratoria aguda	2	5.7
Sepsis grave	7	20.0
Shock	5	14.2
Intoxicaciones exógenas	1	2.8
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

P = 0.04

En el cuadro 6 se aprecia que, en cuanto al tiempo de aparición de los síntomas, predominaron los que se iniciaron entre los 4 a 6 días, seguidos de los de menos de 48 horas: 31.4% y 25.7%, respectivamente.

Distribución de los pacientes con NAV según tiempo de aparición de los síntomas

Síntomas	Número	Porcentaje
Menos de 48 horas	9	25.7
48 a 72 horas	6	17.1
4 a 6 días	11	31.4
7 a 9 días	7	20.0
10 ó más días	2	5.7
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

En cuanto a los patógenos aislados en los niños con NAV se observa en el cuadro 7 que *Pseudomonas* fue predominante, con 25.7% de los casos.

Distribución de las NAV según gérmenes aislados en el periodo de estudio

Gérmenes	Número	Porcentaje
<i>Pseudomona</i>	9	25.7
<i>Enterobacter</i>	5	14.2
<i>Klebsiella</i>	3	8.5
<i>Stafilococo coagulasa negativo</i>	6	17.14
<i>Acinetobacter</i>	7	20.0
No aislan	5	14.2
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

En el cuadro 8 se aprecia que los antimicrobianos más utilizados fueron las cefalosporinas (29.4%), seguidas por ciprofloxacina (23.55%).

Distribución de los antimicrobianos utilizados en los pacientes con NAV en el periodo 2000 – 2002

Antimicrobianos	Número	Porcentaje
Cefalosporinas	15	29.4
Vancomicina	10	19.6
Ciprofloxacino	12	23.5
Aminoglucósidos	7	13.7
Ampicillín	1	1.9
Fosfocina	1	1.9
Cloranfenicol	1	1.9
Meropenem	4	7.8
<b>Total</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

El 85.7% de los pacientes con NAV se recuperaron de la enfermedad (cuadro 9), mientras que 14.2% fallecieron (p < 0.05).

Evolución de los pacientes con NAV en el período de estudio

Evolución	Número	Porcentaje
Vivos	30	85.7
Fallecidos	5	14.2
Total	35	100

### Discusión

La ventilación asistida constituye un procedimiento frecuente en las salas de terapia intensiva en un grupo de patologías y traumas que comprometen la respiración. Este procedimiento representa un riesgo de neumonía asociada a la ventilación.

La neumonía asociada a intubación es la neumonía que se desarrolla en un paciente en ventilación mecánica después de la intubación. La neumonía nosocomial es la principal causa de muerte debida a infecciones adquiridas en el hospital. El 20% de los pacientes intubados y hasta el 70% de los pacientes con síndrome de distrés respiratorio agudo desarrollan neumonía asociada al respirador.

En pacientes intubados y ventilados mecánicamente, la incidencia de neumonía asociada a ventilación mecánica es del 1% por día durante el primer mes de ventilación mecánica. La tasa de mortalidad de la neumonía asociada a ventilación mecánica puede superar el 50%, especialmente si en la infección participan microorganismos multirresistentes, como estafilococos resistentes a meticilina, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, que son particularmente frecuentes en pacientes que previamente recibieron terapia antibiótica por neumonía asociada a ventilación mecánica.

En nuestra investigación, la tasa de prevalencia de NAV fue de 24.82%, similar a la de otros estudios realizados en distintas zonas de Cuba<sup>29</sup> y otros lugares,<sup>6,9,11</sup> aunque presenta tasas mayores que las de estudios realizados en otros países.<sup>3,4</sup>

Los niños comprendidos entre las edades de 11 y 15 años y los menores de un año constituyeron los grupos en mayor riesgo de contraer NAV; este hallazgo es similar a los resultados de los estudios de Maciquez y col.,<sup>29</sup> realizados en Cuba, y también a los llevados a cabo en otros países,<sup>8-12</sup> pero diferentes de los resultados de estudios realizados en el exterior que encontraron cifras altas sólo entre los menores de un año.<sup>14</sup>

En cuanto al sexo la mayor frecuencia fue entre los varones y es similar a investigaciones realizadas en otros países.<sup>5,7-15</sup> Esto podría estar en relación con el hecho de que este grupo se expone más al riesgo de traumatismos que las niñas.

Respecto de la gravedad de las NAV, no hubo ningún caso leve y entre las moderadas y graves no se registraron diferencias significativas, este aspecto es similar a los estudios realizados por otros investigadores en el extranjero.<sup>31,33</sup>

Los patógenos presentes en las NAV influyen notoriamente en la evolución del paciente, como señalamos antes; las especies encontradas con más frecuencia fueron *Pseudomonas*, seguida de *Acinetobacter* y *Enterobacter*, lo que coincide con investigaciones realizadas en Cuba<sup>29</sup> y fuera del país.<sup>6-15</sup>

La antibioticoterapia constituye el elemento fundamental para la evolución adecuada del paciente, por lo que una selección correcta de estos medicamentos puede ser un factor clave en el éxito del tratamiento. En nuestra investigación las cefalosporinas y la ciprofloxacina tuvieron la más alta presencia en el tratamiento, en coincidencia con investigaciones realizadas en otros países.<sup>31,34</sup>

No obstante los esfuerzos que se realizan por salvar la vida de los pacientes, el número de fallecidos por esta causa en el trienio fue de 5 niños, lo que constituye el 14.2% de la muestra, cifra similar a la de estudios realizados en Cuba<sup>29</sup> y en otros países.<sup>15-19</sup>

Los autores no manifiestan conflictos.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Craven DE, Driks MR. Nosocomial pneumonia in the intubated patient. *Semin Respir Infect* 1987; 2: 20-33.
2. Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995; 274: 639-644.
3. Maraví-Poma E, Manrique Larralde A. Infecciones respiratorias nosocomiales. En: Libro de Texto de Cuidados Intensivos: RJ Ginestál Gómez. Edita ELA-ARAN. Madrid 1991: 1445-1459.
4. García de Jalón Sanz J, Maraví-Poma E, Repáraz Abaitua F, Jiménez Urra I, Espatolero Esparza MJ, Gutiérrez Oliver A et al. Incidencia de infecciones nosocomiales en una Unidad de Cuidados Intensivos polivalente. *Asociación a los factores de riesgo. Med Intensiva* 1996; 20: 6-14.
5. Scheld WM, Mandell GL. Nosocomial pneumonia: pathogenesis and recent advances in diagnosis and therapy. *Rev Infect*

- Dis 1991, 13 (Suppl 9): S743-751.
6. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988 [published erratum appears in *Am J Infect Control* 1988; 16: 177]. *Am J Infect Control* 1988; 16: 128-140.
  7. Cook D. Ventilator associated pneumonia: perspectives on the burden of illness. *Intensive Care Med* 2000; 26: S31-S37.
  8. Center for Infections Diseases. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) report, data summary from October 1986-April 1997. *Am J Infect Control* 1997; 25: 477-487.
  9. Andrews CP, Coalson JJ, Smith JD, Johanson WG. Diagnosis of nosocomial bacterial pneumonia in acute diffuse lung injury. *Chest* 1981; 80: 254-258.
  10. Fagon JY, Chastre J, Domart Y, Trouillet JL, Pierre J, Darne C et al. Nosocomial pneumonia in patients receiving continuous ventilation: prospective analysis of 52 episodes with use of a protected specimen brush and quantitative culture techniques. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 877-884.
  11. Cook DJ, Walter S, Cook RJ, Griffith LE, Guyart GH, Leasa D et al. The incidence and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med* 1998; 129: 433-440.
  12. Alvarez-Lerma F, de la Cal MA, Palomar M, Insausti J, Olaechea P et al. Spanish Study Group of Surveillance of ICU-Acquired Infection. Surveillance of ICU-acquired infection. Time trends of indicators of ICU-acquired infections from 1994-1997. A Spanish multicenter study. *Intensive Care Med* 1998; 24 (Suppl 1): 57S (Abstract 174).
  13. Alvarez-Lerma F, Palomar M, Martínez-Pellus AE, Álvarez-Sánchez B, Pérez-Ortiz E, Jorda R and ICU-acquired Pneumonia Study Group. Aetiology and diagnostic techniques in intensive care-acquired pneumonia: A Spanish multicenter study. *Clin Intensive Care* 1997; 8: 164-170.
  14. Chevret S, Hemmer M, Carlet J, Langer M and European Cooperative Group on Nosocomial Pneumonia. Incidence and risk factors of pneumonia acquired in intensive care units. Results from a multicenter prospective study on 996 patients. *Intensive Care Med* 1993; 19: 256-264.
  15. Alvarez Lerma F y Grupo de Estudio de la Neumonía adquirida en UCI. Capítulo 1: Neumonía nosocomial en UCI. Estudio multicéntrico. En: Neumonías adquiridas en los Servicios de Medicina Intensiva. Monografías Médicas "Estudios multicéntricos". SEMIUC - Grupo de Trabajo de Enfermedades Infecciosas. EMISA, Madrid 1995: 1-13.
  16. Palomar M, Bermejo B y Grupo de Estudio de la Neumonía Adquirida en UCI. Capítulo 3: Factores de mal pronóstico de las neumonías adquiridas en UCI. En: Neumonías adquiridas en los Servicios de Medicina Intensiva. Monografías Médicas "Estudios multicéntricos". SEMIUC-Grupo de trabajo de Enfermedades Infecciosas. EMISA, Madrid 1995: 27-40.
  17. Maravi-Poma EE. Diagnóstico de la Brucelosis humana: Aplicación de las técnicas de Rosa Bengala y Contrainmunolectroforesis. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra 1976: 226-227.
  18. Tryba M. Risk of acute estrés bleeding and nosocomial pneumonia in ventilated intensive care unit patients: sucralfate versus antacids. *Am J Med* 1987; 83 (Suppl 3B): 117-124.
  19. Driks MR, Craven DE, Celli BR, Manning M, Burke RA, Garvin GM et al. Nosocomial pneumonia in intubated patients given sucralfate as compared with antacids or histamine type 2 blockers. The role of gastric colonization. *N Engl J Med* 1987; 317: 1376-1382.
  20. Junquera PC, Giral Sanz R, López JM y Grupo de Estudio de la NN-UCI. Características clínicas y perfil del enfermo que adquiere una neumonía nosocomial en UCI. *Med Intensiva* 1990; 14: 403-406.
  21. Estes RJ, Meduri GU. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: I. Mechanisms of bacterial transcolonization and airway inoculation. *Intensive Care Med* 1995; 21: 365-383.
  22. Celis R, Torres A, Gatell JM, Almela M, Rodríguez-Roisin R, Agustí-Vidal A. Nosocomial pneumonia. A multivariate analysis of risk and prognosis. *Chest* 1988; 93: 318-324.
  23. Mariscal D, Rello J. El diagnóstico de neumonía en pacientes Intubados: la infructuosa búsqueda de "El Dorado". *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18: 59-61.
  24. Huxley E, Viroslav J, Gray W, Pierce A. Pharyngeal aspiration in normal adults and patient with depressed consciousness. *Am J Med* 1978, 64: 564-567.
  25. Murray PR, Rosenblat JE. Bacterial interference by oropharyngeal and clinical isolates of anaerobic bacteria. *J Infect Dis* 1976; 134: 281-285.
  26. Martínez Pellicer A. Descontaminación digestiva selectiva en UCI. Argumentos a favor. *Med Intensiva* 1996, 20: 151-157.
  27. Rello J, Vallés J. La utilización de la descontaminación digestiva selectiva en la práctica asistencial habitual no está justificada. *Med Intensiva* 1996; 20: 158-160.
  28. Meduri GU, Estes RJ. The pathogenesis of ventilator-associated pneumonia: II. The lower respiratory tract. *Intensive Care Med* 1995; 21: 452-461.
  29. Maciques RR; Castro BL Pacheco L, Machado SO Manresa GD. Neumonía nosocomial asociada a ventilación mecánica Índice. *Rev Cubana Pediatr* 2002; 74(3):222-32.
  30. Garnacho-Montero J; Ortiz-Leyba C; Jiménez-Jiménez FJ; Barrero-Almodóvar AE; García-Garmendia JL; Bernabeu-Wittell M; Gallego Lara SL; Madrazo-Osuna J. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem- susceptible VAP. *Clin Infect Dis* 2003; 36(9): 1111-8.
  31. Combes A; Figliolini C; Trouillet JL; Kassis N; Dombret MC; Wolff M; Gibert C; Chastre J. Factors predicting ventilator-associated pneumonia recurrence. *Crit Care Med* 2003; 31(4):1102-7
  32. Wang C; Shang M; Huang K; Tong Z; Kong W; Jiang C; Dai H; Zhang H; Weng X Sequential non-invasive mechanical ventilation following short-term invasive mechanical ventilation in COPD induced Chin Med J (Engl) 2003; 116(1):39-43
  33. Kollef MH. Treatment of ventilator-associated pneumonia: get it right from the start. *Crit Care Med* 2003; 31(3):969-70.
  34. Luna CM; Blanzaco D; Niederman MS; Matarucco W; Baredes NC; Desmery P; Palizas F; Menga G; Rios F; Apezteguia C. Resolution of ventilator-associated pneumonia: prospective. *Crit Care Med* 2003; 31(3):676-82

## LA L-ASPARAGINASA ACTUA COMO AGREGANTE PLAQUETARIO EN LA LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA DE LA INFANCIA



Columnista Experto de SIIC  
Dr. José Carlos Jaime Pérez

Jefe de Enseñanza e Investigación de Hematología. Coordinador General de Investigación, Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José E. González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Campo de especialización: Hematología.

### Introducción

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más común en la infancia. Con una frecuencia de 3.3 casos por cada 100 000 niños, constituye el 30% de todos los cánceres en esa edad.<sup>1</sup> La variedad más frecuente es la que se origina en los linfocitos B, que comprende casi el 90% de los casos.<sup>1</sup> Con tratamiento óptimo la tasa de curación está aproximándose al 80% en los países con mayor desarrollo en sus sistemas de salud.<sup>2</sup> La L- asparaginasa es parte fundamental del tratamiento, se la incluye en diversas dosis en todos los esquemas terapéuticos.<sup>3,4</sup> Su uso intensivo ha resultado en mejores tasas de respuesta,<sup>5,6</sup> aunque puede acompañarse de formación de anticuerpos anti-asparaginasa<sup>7</sup> y de reacciones de hipersensibilidad, que pueden o no implicar el desarrollo de resistencia al efecto de la enzima,<sup>8</sup> pero que obligan a cambiar a una asparaginasa de origen diferente a la de *E. coli*, como la obtenida de *Erwinia carotobora*.

La administración de L-asparaginasa puede acompañarse, además, de eventos tromboembólicos graves, los cuales se presentan con una incidencia del 2.4% al 36.7%.<sup>9,10</sup> Diversos estudios documentaron una disminución del fibrinógeno y de las proteínas anticoagulantes C, S y antitrombina III (ATIII) en niños que reciben tratamiento para la LLA.<sup>11,12</sup> Recientemente se identificaron mutaciones en estas proteínas, así como en la protrombina y el factor V.<sup>9</sup> Sin embargo éstas tienen la prevalencia esperada en la población, por lo que por sí mismas no explican los eventos tromboembólicos, de lo que se deduce la existencia de factores procoagulantes adicionales relacionados al tratamiento, factores ambientales o manebos.<sup>9,12</sup> En esta investigación postulamos la hipótesis de que la L-asparaginasa tiene un efecto agonista plaquetario, que podría contribuir al estado hipercoagulable y al riesgo de desencadenar eventos trombóticos en niños con LLA.

### Pacientes y métodos

En el estudio se siguieron los principios establecidos en la Declaración de Helsinki y se obtuvo el consentimiento informado de ambos padres. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la institución. Se estudiaron veinte pacientes menores de 12 años con el diagnóstico de LLA de la infancia de riesgo estándar, sometidos a un protocolo de inducción de la remisión que incluyó vincristina, 1.4 mg/m<sup>2</sup>/i.v., prednisona, 60 mg/m<sup>2</sup>/día/v.o., y L- asparaginasa 6 000 U/m<sup>2</sup> / 2 veces por semana. El grupo control incluyó 15 individuos sanos, no fumadores, sin ingestión de anti-inflamatorios no esteroides y con tiempo de sangrado y cuenta de plaquetas normales.

En los pacientes los estudios de agregometría plaquetaria se realizaron durante la fase de inducción de la remisión, cuando se habían recibido al menos cuatro dosis de L-asparaginasa y la cuenta de plaquetas era > 100x10<sup>9</sup>/l, utilizando un método publicado previamente.<sup>13</sup> Se empleó un agregómetro óptico automatizado (Chronolog modelo 530VS, Haverton, PA, EE.UU.) que lleva a cabo la integración del proceso por medio de una interfase y software específicos (Aggrolink, Haverton, PA, EE.UU.).

Se obtuvieron 20 ml de sangre venosa, descartando los primeros 5 ml, sin aplicación de torniquete o utilizando éste con una compresión ligera, en tubos de plástico conteniendo citrato de sodio al 3.8%, en una relación 1:9 v/v. La muestra se obtuvo dentro de las 24 horas posteriores a la administración de la cuarta dosis de L-asparaginasa, cuya vida media es de 26 horas.<sup>14</sup> Las plaquetas se obtuvieron preparando un plasma rico en plaquetas a 135 g por 15 minutos a temperatura ambiente. Durante una segunda centrifugación a 1 500 g por 15 minutos se obtuvo el plasma pobre en plaquetas para emplearlo en la dilución y ajuste de la muestra a una cuenta de 250 000 plaquetas x 10<sup>9</sup>/l, y para establecer la lectura basal de agregación en 0%. Se estudiaron las respuestas a 37°C a 1 000 revoluciones por minuto (rpm) a los siguientes agonistas:<sup>13</sup> ristocetina, 1.5 mg/ml, adenosin difosfato (ADP) 10 µM, epinefrina 10 µM y colágeno 2.5 µg/ml. Diluciones salinas de L- asparaginasa (Leunase, Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd, Tokio, Japón) en

concentraciones de 2 500, 5 000, y 10 000 unidades en solución fisiológica al 0.9%, con un pH de 7.3, fueron empleadas como agonistas en ensayos independientes. Se agregó cada agonista en un volumen de 50 µl a una cubeta conteniendo 450 µl de la muestra y se procedió al ensayo; cada ensayo incluyó un control de voluntarios normales. El resultado, expresado como porcentaje de agregación, se analizó en la gráfica correspondiente. Se procedió a comparar las diferentes curvas generadas.

### Resultados

Las características clínicas e iniciales de laboratorio de los niños con LLA, expresados como la mediana y el rango, incluyeron las siguientes: edad: 6.0 años (2-13); hemoglobina: 62 g/l (48-89); leucocitos totales: 23 200 por microlitro (948-105 000); plaquetas: 31 300 por microlitro (1 170-259 000); albúmina: 3.5 g/l (2.4-4.8); proteínas totales: 6.5 g/l (5.9-7.5); inmunoglobulina G sérica: 945 mg/dl (400-1 209). La agregometría demostró un claro efecto proagregante de la L-asparaginasa, tanto en plaquetas de pacientes con LLA en fase de inducción (figura 1), como en las de voluntarios normales (no mostrada). El porcentaje de agregación con las diluciones de la L-asparaginasa varió de 28% con una concentración de 2 500 UI, 52% cuando se empleó la concentración de 5 000 UI (figura 1), hasta un 100%, en el caso de la dilución de 10 000 UI, presentándose como una potente onda de agregación primaria en menos de un minuto del ensayo. El porcentaje de desagregación fue menor al 5% a los 7 minutos de registro. Se apreció una correlación entre la concentración de la L-asparaginasa y el porcentaje de agregación plaquetaria en ambos grupos. No se detectaron diferencias en la agregometría entre las plaquetas de individuos sanos y de pacientes con LLA, ni con agonistas usuales ni con las diferentes concentraciones de L-asparaginasa; en la figura 2 se muestra el resultado normal de la agregometría efectuada en el mismo paciente utilizando colágeno, 2.5 microgramos por ml.

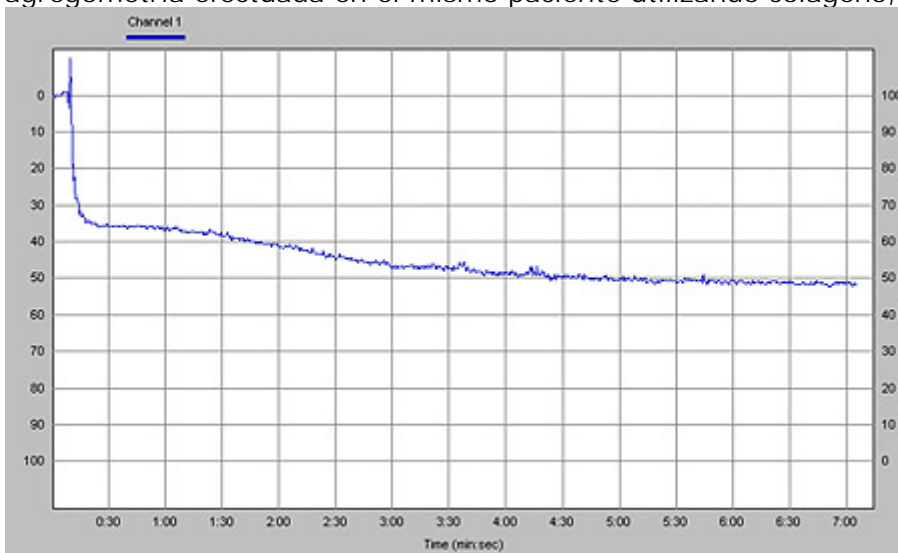


Figura 1. Agregación plaquetaria (52%) determinada en plasma rico en plaquetas de un paciente con leucemia aguda linfoblástica de la infancia, después de estimulación con una dilución de L-asparaginasa de 5 000 UI/ml. Es de notarse la velocidad acelerada de la reacción durante los primeros segundos, progresando después lentamente hasta alcanzar una fase de meseta ligeramente superior al 50% de la agregación.



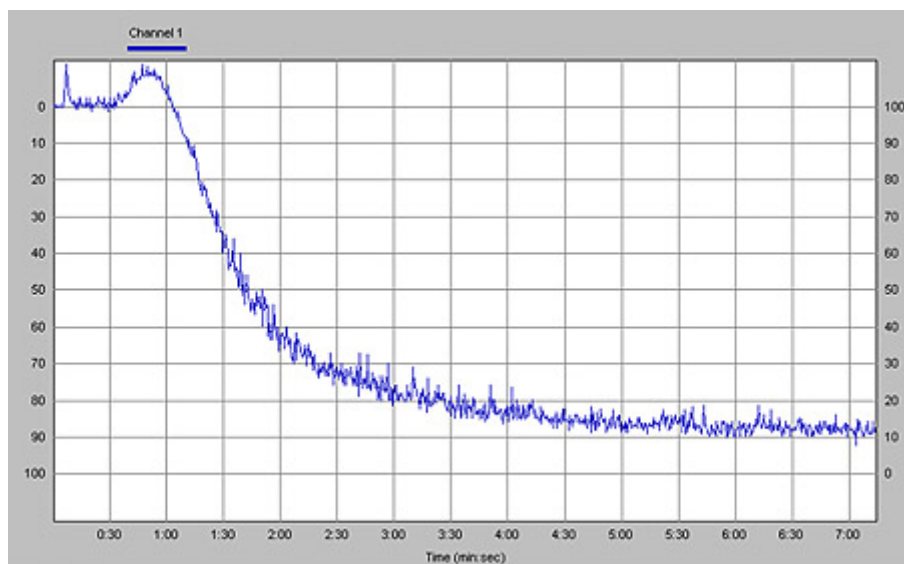


Figura 2. Agregación plaquetaria (90%) determinada en plasma rico en plaquetas por agregometría óptica en el mismo paciente de la figura 1, después de estimulación con un reactivo estándar de colágeno, 2.5 µg/ml.

Uno de los pacientes, una niña de 4 años, desarrolló trombosis en el hemisferio cerebral derecho, documentada por tomografía axial computarizada, después de la administración de la tercera dosis de L-asparaginasa, cuando su cuenta plaquetaria era de solamente  $20 \times 10^9/l$ . Su patrón de respuesta en la agregometría resultó similar al de los otros pacientes, con respuesta de agregación *in vitro* al estímulo de la L-asparaginasa.

### Discusión

La disminución de las proteínas anticoagulantes C, S y ATIII ha sido reconocida como una de las causas principales del estado hipercoagulable en niños con LLA.<sup>9</sup> Dicho estado puede conducir a eventos tromboticos graves y se cree que es el resultado de la quimioterapia administrada,<sup>11</sup> y de otros factores todavía no identificados.<sup>9</sup> Como ejemplo, en un estudio reciente se encontró una asociación entre el desarrollo de eventos tromboembólicos y la aparición de anticuerpos antifosfolípidos, más que con la presencia de los factores protrombóticos hereditarios previamente citados.<sup>10</sup> La naturaleza inherentemente compleja de este estado de desequilibrio hemostático en la LLA, así como los múltiples factores que pueden influir en el desencadenamiento de eventos tromboticos, ha sido recientemente revisada, contemplándose la posible participación de, entre otros, la liberación de micropartículas celulares conteniendo factor tisular activado, así como la inducción de formación de trombos secundaria a infección bacteriana.<sup>15</sup>

La L-asparaginasa en dosis elevadas forma parte integral del tratamiento exitoso de la LLA de la infancia y se la ha relacionado con el estado hipercoagulable durante la fase de inducción de la remisión<sup>16</sup> y con el desarrollo de anticuerpos específicos y reacciones de hipersensibilidad<sup>17</sup> que obligan a utilizar una asparaginasa de origen diferente del de *E. coli*,<sup>8</sup> un protocolo de desensibilización o ambas medidas.<sup>18</sup> La L- asparaginasa ha sido estudiada con relación al desarrollo del estado hipercoagulable de la LLA en asociación con la disminución de las proteínas C, S y ATIII. Sin embargo, la L-asparaginasa no ha sido, hasta donde sabemos, estudiada o involucrada en la activación de la fase plaquetaria de la coagulación ni empleada como agonista en estudios de los efectos proagregantes de otros agentes.

En este estudio se demostró claramente que la L-asparaginasa puede actuar como un potente agonista plaquetario *in vitro*, en forma proporcional a su concentración, lo mismo en plaquetas de niños con LLA que en las de individuos sanos, libres de patología plaquetaria. Aunque este efecto proagregante no ha sido documentado *in vivo*, su administración podría ser uno de los factores protrombóticos no identificados relacionados con el tratamiento, y cuya existencia se sugirió en estudios previos.<sup>9</sup> En conjunto con la disminución de las proteínas anticoagulantes naturales, un efecto proagregante de la enzima podría contribuir al estado hipercoagulable observado en la fase inicial del tratamiento de la LLA.<sup>11</sup> Recientemente se informó que el alcaloide de la vinca, vincristina, utilizado junto con la L-asparaginasa en la fase de inducción de la remisión de la LLA, es capaz de inducir apoptosis *in vivo* de células mononucleares malignas, con un índice apoptótico de hasta 40%.<sup>19</sup> La apoptosis participa en un numeroso grupo de fenómenos biológicos, entre ellos, de manera notable, la trombogénesis, probablemente a través de la activación del factor tisular,<sup>20</sup> se sabe que la interacción de las plaquetas con las células mononucleares en otras enfermedades, como el lupus eritematoso sistémico, acelera la producción del factor tisular por los monocitos activados,<sup>21</sup> algo similar podría suceder por medio de la interacción entre plaquetas y

linfoblastos apoptóticos. La formación de estos complejos heterotípicos circulantes, que podrían contribuir al estado hipercoagulable, ha sido documentada entre plaquetas y neutrófilos,<sup>22</sup> y entre plaquetas y células mononucleares,<sup>23</sup> por lo que cabe la posibilidad de su formación entre plaquetas y linfoblastos leucémicos.

Es posible que un estado de agregación plaquetaria aumentada debido a un efecto proagregante asociado con la administración de L-asparaginasa, como se documentó *in vitro* en este estudio, en combinación con la disminución en la síntesis de las proteínas anticoagulantes naturales C, S y ATIII, aunada a los fenómenos apoptóticos procoagulantes secundarios a la utilización de vincristina, ayude a explicar de manera más completa el desencadenamiento de fenómenos trombóticos en la fase de inducción de la remisión de la LLA de la infancia. Es también evidente, a la luz de éstos y otros hallazgos, que diferentes protocolos para el tratamiento de la LLA pueden conducir a diferentes tasas de tromboembolismo,<sup>9,10</sup> probablemente debido a diferencias en las dosis, esquemas y rutas de administración de los agentes quimioterapéuticos. A este respecto, las combinaciones de los diferentes agentes utilizados, particularmente cuando se emplea prednisona en sustitución de la dexametasona durante la fase de inducción de la remisión, puede conducir a diferencias dramáticas en la incidencia de eventos trombóticos.<sup>24</sup> Una agregometría plaquetaria ha sido previamente sugerida en pacientes con trastornos mieloproliferativos y eventos trombóticos<sup>25</sup> y podría estar indicada, utilizando diluciones de la L-asparaginasa como agonista adicional, para identificar el subgrupo de niños en riesgo de sufrir eventos trombóticos, con el fin de evaluar la administración de anticoagulantes de manera profiláctica, como se ha propuesto para el uso de la heparina de bajo peso molecular en aquellos pacientes en los que se identifica una disminución significativa de proteínas anticoagulantes C, S y ATIII.<sup>9</sup> Adicionalmente, debe estudiarse la posibilidad de que la enzima contribuya de manera directa a la deficiencia de estas proteínas, ya que se ha documentado la disminución de la actividad de diversas proteínas involucradas en el control de la coagulación después de breves intervalos de incubación del plasma con diversas concentraciones de L- asparaginasa.<sup>26</sup>

Los autores no manifiestan conflictos

## BIBLIOGRAFÍA

1. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia, in Williams Hematology, 6<sup>th</sup> ed, Beutler E, Lichtman M, Coller B, and Seligson U (eds), p 1141-1161. McGraw Hill, New York, 2001.
2. Greaves M. Science, Medicine and the Future. Childhood leukemia. Br Med J 2002; 324: 283-7.
3. Felix CA, Lange BJ, Chessells JM. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. Hematology 2000; \*\*: 285-302.
4. Richards S, Burrett J, Hann I, Chessells J, Hill F, Bailey C. Improved survival with early intensification: combined results from the Medical Research Council childhood ALL randomized trials, UKALL X and UKALL XI. Medical Research Working Party on Childhood Leukemia. Leukemia 1998; 12: 1031-1036.
5. Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, Trigg ME, Cherlow JM, Lukens JN. Augmented post-induction therapy for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia and a slow response to initial therapy. N Eng J Med 1998; 338: 1663-1671.
6. Amylon MD, Shuster J, Berard C, Link MP, Wharam M. Intensive high-dose asparaginase consolidation improves survival for pediatric patients with T cell acute lymphoblastic leukemia and advanced stage lymphoblastic lymphoma: a Pediatric Oncology Group study. Leukemia 1999; 13: 335-342.
7. Woo MH, Hak LJ, Storm MC, Sandlund JT, Rivera GK, et al. Anti-asparaginase antibodies following E. coli asparaginase therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 1998; 12: 1257-1533.
8. Larson RA, Fretzin MH, Dodge RK, Schiffer CA. Hypersensitivity reactions to L- asparaginase do not impact on the remission duration of adults with acute lymphoblastic leukemia . Leukemia 1998; 12: 660-665.
9. Nowak-Gotti U, Wermes C, Junker R, Koch HG, Schobess R, Fleischhack G. Prospective evaluation of the thrombotic risk in children with acute lymphoblastic leukemia carrying the MTHFR TT 667 genotype, the prothrombin G20210A variant, and further prothrombotic risk factors. Blood 1999; 93: 1595-1599.
10. Mitchell L, Andrew M, Hanna K, Abshire T, Chait P, Halton J, et al. A prospective cohort study determining the prevalence of thrombotic events in children with acute lymphoblastic leukemia and a central venous line who are treated with L- asparaginase: results of the Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with ALL Treated with Asparaginase Group (PARKAA). Cancer 2003; 97: 508-16.
11. Mitchell LG, Sutor AH, Andrew M. Hemostasis in childhood acute lymphoblastic leukemia : coagulopathy induced by disease or treatment. Semin Thromb Hemost 1995; 21: 390-401.
12. Corso A, Castagnola C, Bernasconi C. Thrombotic events are not exclusive to the remission induction period in patients with acute lymphoblastic leukemia: a report of two cases of cerebral sinus thrombosis. Ann Hematol 1997; 75: 117-119.

13. McCabe WM, Jennings LK. Laboratory evaluation of platelet function, in: Platelet Protocols, Research and Clinical Laboratory Procedures, McCabe WM and Jennings LK, (eds) p. 40-50. Academic Press, San Diego, CA, 1999.
14. Avramis VI, Sencer S, Periclou AP, sather H, Bostrom BC, Cohen LJ, Ettinger AG, Ettinger LJ, franklin J, gaynon OS, Hilden JM, Lange B, Majlessipour F, Mathew P, Needle M, Neglia J, Reaman G, Holsenberg JS. A randomized comparison of native Escherichia coli asparaginase and polyethylene glycol conjugated asparaginase for treatment of children with newly diagnosed standard-risk acute lymphoblastic leukemia: a Children´s Cancer Group study. Blood 2002; 99: 1986- 1994.
15. Jaime-Pérez JC, Gómez-Almaguer D. The complex nature of the prothrombotic state in acute lymphoblastic leukemia of childhood. Haematologica 2003; 88: (07)ELT25
16. Castaman G, Rodeghiero F, Dini E. Thrombotic complications during L- asparaginase treatment for acute lymphoblastic leukemia. Haematologica 1990; 75: 567-569.
17. Woo MH, Hak LI, Storm MC, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rivera GK, Rubnitz JE, Harrison PL, wang B, Evans WE, Pui CH, Relling MV. Hypersensitivity or development of antibodies to asparaginase does not impact treatment outcome of acute lymphoblastic leukemia. J Clin Oncol 2000; 18: 1525-1532.
18. Bonno M, Kawasaki H, Hori H, Umemoto M, Sakurai M,. Rapid desensitization for L-asparaginase sensitivity. J Aller Clin Immunol 1998; 101: 497-502.
19. Groninger E, de Graaff SSN, Meeuwesen-de-Boer GJ, Sluiter WJ, Poppema S. Vincristine induced apoptosis in vivo in peripheral blood mononuclear cells of children with acute lymphoblastic leukemia. Br J Haematol 2000; 111: 875-878.
20. Wang J, Weiss I, Svoboda K, Kwaan C. Thrombogenic role of cells undergoing apoptosis. Br J Haematol 2001; 115: 382-391.
21. Silverstein RL, Nachman RL. Thrombospondin binds to monocytes- macrophages and mediates platelet-monocyte adhesion. J Clin Invest 1987; 79: 867- 874.
22. Peters MJ, Dixon G, Kotowicz KT, Hatch DJ, Heyderman RS, Klein NJ. Circulating platelet-neutrophil complexes represent a subpopulation of activated neutrophils primed for adhesion, phagocytosis and intracellular killing. Br J Haematol 1999; 106: 391-399.
23. Larsen E, Celi A, Gilbert GE, Furie BC, Erban JK, Bonfanti R, Wagner DD, Furie B. PADGEM protein: a receptor that mediates the interaction of activated platelets with neutrophils and monocytes. Cell 1989; 59: 305-312.
24. Nowak-Göttl U, Alkhe E, Fleischhack G, Schwabe D, Schobess R, Schumann C, Wermes C, Junker R. Thromboembolic events in children with acute lymphoblastic leukemia (BFM protocols): prednisone versus dexamethasone administration. Blood 2003; 101: 25-29-33.
25. Manoharan A, Gemmell R, Brighton T, Dunkley S, Lopez A, Kkyle P. Thrombosis and bleeding in myeloproliferative disorders: identification of at-risk patients with whole blood platelet aggregation studies. Br J Haematol 1999; 105: 618-625.
26. Nowak-Gottl U, Boos J, Wolff JE, Lill H, Veltmann H, Werber G, Ahlke E, Jurgens H. Asparaginase decreases clotting factors in vitro: a possible pitfall? Int J Clin Lab Res. 1995; 25(3): 146-8.