

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Pediatría



**DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS NIVELES DE
MELATONINA EN LA EVOLUCIÓN DE LA SEPSIS
NEONATAL**

TESIS DOCTORAL

Elena Abad Pérez

DIRIGIDA POR

Prof. Dr. Luis Madero López
Prof. Dr. Jose Jiménez Martínez

Madrid, 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Pediatría



Tesis Doctoral

**DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS NIVELES DE MELATONINA EN LA
EVOLUCIÓN DE LA SEPSIS NEONATAL**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por

ELENA ABAD PÉREZ

bajo la dirección de los doctores

Luis Madero López
Jose Jiménez Martínez

Madrid, 2014

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	La Melatonina	3
1.1.1.	Generalidades e historia de la glándula pineal	3
1.1.2.	Síntesis y Regulación de la melatonina	7
1.1.3.	Mecanismos de acción de la melatonina	11
1.1.4.	Funciones de la melatonina	12
1.2.	La melatonina en el niño	19
1.2.1.	Variación de la producción de melatonina en función de la edad	19
1.2.2.	Melatonina en el recién nacido	21
1.2.2.1.	Estrés oxidativo en el recién nacido	21
1.2.2.2.	Posibilidades terapéuticas de la Melatonina en el periodo neonatal	22
1.2.2.3.	Melatonina y lactancia materna	24
1.2.3.	Posibilidades terapéuticas de la melatonina en la edad pediátrica	24
1.2.4.	Dosificación, seguridad y posibles efectos adversos de la melatonina en el niño	31
1.3.	Sepsis neonatal	33
1.3.1.	Problemas para la definición de la sepsis neonatal.	33
1.3.2.	Patogénesis de la sepsis neonatal	40
1.3.3.	Epidemiología de la sepsis neonatal	42
1.3.3.1.	Sepsis precoz de transmisión vertical	42
1.3.3.2.	Sepsis tardía de transmisión nosocomial	44
1.3.4.	Agentes etiológicos de la sepsis neonatal	45
1.3.4.1.	Sepsis precoz de transmisión vertical	45
1.3.4.2.	Sepsis tardía de transmisión nosocomial	45

1.3.5.	Clínica de la sepsis neonatal	46
1.3.6.	Diagnóstico de la sepsis neonatal	47
1.3.6.1.	Estudios complementarios	48
1.3.7.	Tratamiento de la sepsis neonatal	54
1.3.7.1.	Sepsis precoz de transmisión vertical	54
1.3.7.2.	Sepsis tardía de transmisión nosocomial	55
1.4.	La melatonina en la sepsis	56
1.4.1.	Estrés oxidativo y sepsis neonatal	56
1.4.2.	Melatonina y sepsis	57
1.4.2.1.	Melatonina y sepsis en el adulto	57
1.4.2.2.	Melatonina y sepsis en el niño	59
2.	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	63
2.1	Justificación	65
2.2	Objetivos	67
3.	PACIENTES Y MÉTODOS	69
3.1.	Pacientes	71
3.1.1.	Definiciones	73
3.2.	Métodos	77
3.2.1.	Método clínico y analítico	77
3.2.1.1.	Protocolo de actuación ante la sospecha de sepsis neonatal	77
3.2.1.2.	Determinación de melatonina	78
3.2.2.	Método de recogida de datos	79
3.2.2.1.	Datos clínicos	80
3.2.2.2.	Datos analíticos	80
3.2.2.3.	Definiciones operacionales	81
3.2.3.	Método estadístico	83
3.2.3.1.	Estadística descriptiva	83

3.2.3.2. Estadística inferencial	85
4. RESULTADOS	87
4.1. Características generales	89
4.2. Estadística descriptiva demográfica	92
4.3. Estadística descriptiva de las variables en relación con la infección	97
4.4. Descripción y análisis de los niveles de melatonina en la evolución de la sepsis neonatal	106
4.5. Correlación de los niveles de melatonina con otras variables	118
5. DISCUSIÓN	123
5.1. Consideraciones del diseño del estudio	125
5.2. Características generales	129
5.2.1. Consideraciones epidemiológicas perinatales	129
5.2.2. Consideraciones epidemiológicas en relación con la infección	132
5.3. Niveles de melatonina en la sepsis neonatal	135
5.4. Niveles de melatonina en relación a otras variables	149
5.5. Consideraciones finales	155
6. CONCLUSIONES	159
7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	163
8. BIBLIOGRAFÍA	167

9.	ANEXOS	193
9.1.	Documento de consentimiento informado	195
9.2.	Hoja de recogida de datos	197
9.3.	Tablas de datos recogidos	200

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla 1.1.	Grupos de edad pediátrica para definición de sepsis, signos vitales y variables de laboratorio por grupos de edad	35
Tabla 1.2.	Definiciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), infección, sepsis, sepsis severa y shock séptico	36
Tabla 1.3.	Criterios para disfunción de órgano	37
Tabla 1.4.	Signos clínicos y de laboratorio para el diagnóstico de sepsis neonatal	39
Tabla 1.5.	Factores de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal	42
Tabla 1.6.	Signos clínicos en la sepsis neonatal	47
Tabla 1.7.	Sensibilidad, especificidad, y valor predictivo positivo y negativo de algunas pruebas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de la sepsis neonatal	54
Tabla 3.1.	Signos clínicos y de laboratorio para el diagnóstico de sepsis neonatal	74
Tabla 3.2.	Definiciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), infección, sepsis, sepsis severa y shock séptico	75
Tabla 3.3.	Criterios para disfunción de órgano	76
Tabla 3.4.	Test de Apgar	82
Tabla 4.1.	Características Perinatales I.	90
Tabla 4.2.	Características Perinatales II	91
Tabla 4.3.	Análisis de la edad gestacional y peso	92
Tabla 4.4.	Descripción de la edad gestacional, en tres grupos	92
Tabla 4.5.	Descripción del peso al nacimiento, en 2 grupos	93

Tabla 4.6.	Peso al nacimiento en el recién nacido a término (RNT).	93
Tabla 4.7.	Peso al nacimiento en el recién nacido pretérmino (RNPT).	94
Tabla 4.8.	Frecuencia del peso al nacimiento en el RNPT	94
Tabla 4.9.	Descripción del sexo	94
Tabla 4.10.	Descripción del tipo de parto	95
Tabla 4.11.	Descripción del tiempo de bolsa rota	95
Tabla 4.12.	Descripción de la administración de corticoides prenatales	96
Tabla 4.13.	Descripción del tipo de reanimación en el recién nacido pretérmino, por grupos de peso	96
Tabla 4.14.	Descripción de la edad al diagnóstico de sepsis	97
Tabla 4.15.	Descripción de los 3 grupos de clasificación de los pacientes	98
Tabla 4.16.	Características epidemiológicas del grupo de sepsis poco probable	98
Tabla 4.17.	Características epidemiológicas del grupo de sepsis clínica	99
Tabla 4.18.	Características epidemiológicas del grupo de sepsis confirmada	99
Tabla 4.19.	Características de las variables en relación con la infección al diagnóstico de sepsis I	100
Tabla 4.20.	Características de las variables en relación con la infección al diagnóstico de sepsis II	101
Tabla 4.21.	Características de las variables en relación con la infección al diagnóstico de sepsis II	101
Tabla 4.22.	Características perinatales y al diagnóstico de sepsis de los fallecidos	106

Tabla 4.23.	Descripción de los niveles séricos de melatonina durante la sepsis	107
Tabla 4.24.	Análisis descriptivo de los niveles de melatonina durante la sepsis neonatal	108
Tabla 4.25 y 4.26..	Descripción de los niveles de melatonina a lo largo de la sepsis en pacientes con sepsis poco probable y en los pacientes con sepsis clínica o confirmada.	109
Tabla 4.27.	U de Mann- Whitney: Comparación de melatonina media al diagnóstico, a las 12 horas, a las 24 horas, a las 48 horas y a los 7 días del diagnóstico, en sepsis poco probable frente a sepsis clínica o confirmada	111
Tabla 4.28.	Sensibilidad y especificidad para los diferentes puntos de corte de melatonina a las 12 horas del diagnóstico	113
Tablas 4.29 y 4.30.	Descripción de los niveles de melatonina a lo largo de la sepsis en pacientes con sepsis confirmada y clínica no grave y en los pacientes con sepsis grave	114
Tabla 4.31.	U de Mann- Whitney: Comparación de melatonina media al diagnóstico, a las 12 horas, a las 24 horas, a las 48 horas y a los 7 días del diagnóstico, en sepsis clínica o confirmada no grave frente a sepsis clínica o confirmada grave	116
Tabla 4.32.	Descripción de los niveles de melatonina en los pacientes que fallecieron	117
Tabla 4.33.	Descripción de los niveles de melatonina al diagnóstico en dos grupos, en función del exitus	117
Tabla 5.1.	U de Mann- Whitney: Comparación de melatonina media al diagnóstico, a las 12 horas, a las 24 horas, a las 48 horas y a los 7 días del diagnóstico, en sepsis poco probable frente a sepsis clínica o confirmada	138

Tabla 5.2.	Análisis descriptivo de los niveles séricos de melatonina en el RNPT (Datos tomados de la Tesis Doctoral: “Correlación de los datos clínicos y biológicos del recién nacido pretérmino con distrés respiratorio y sus niveles de melatonina en el primer mes de vida.” Dra. María Velazquez de Cuéllar Paracchi, Madrid 2013).	143
Tabla 5.3.	Melatonina en el RNPT con sepsis poco probable	145
Tabla 5.4.	Melatonina en el RNPT con sepsis clínica o confirmada	144
Tabla 5.5.	Niveles de melatonina en los pacientes fallecidos	148
Tabla 9.1.	Datos clínicos al diagnóstico de sepsis	200
Tabla 9.2.	Datos analíticos al diagnóstico de sepsis	201
Tabla 9.3.	Datos clínicos a las 12 horas del diagnóstico de sepsis	202
Tabla 9.4.	Datos analíticos a las 12 horas del diagnóstico de sepsis	203
Tabla 9.5.	Datos clínicos a las 24 horas del diagnóstico de sepsis	204
Tabla 9.6.	Datos analíticos a las 24 horas del diagnóstico de sepsis	205
Tabla 9.7.	Datos clínicos a las 48 horas del diagnóstico de sepsis	206
Tabla 9.8.	Datos analíticos a las 48 horas del diagnóstico de sepsis	207
Tabla 9.9.	Datos clínicos a los 7 días del diagnóstico de sepsis	208
Tabla 9.10.	Datos analíticos a los 7 días del diagnóstico de sepsis	209
Tabla 9.11.	Niveles séricos de melatonina durante la sepsis	210

FIGURAS

Figura 1.1.	Anatomía de la glándula pineal	3
Figuras 1.2 y 1.3.	Aaron B. Lerner en una fotografía de 1971; Estructura química de la melatonina.	6
Figura 1.4.	Síntesis de melatonina a partir de la Serotonina	8
Figura 1.5.	Vía nerviosa de regulación de la síntesis de melatonina	9
Figura 1.6.	Incidencia evolutiva de la sepsis de transmisión vertical en el Grupo de Hospitales Castrillo 1996-2006	43
Figura 4.1.	Diseño del estudio	89
Figura 4.2.	Descripción del peso al nacimiento, en 2 grupos	93
Figura 4.3.	Administración de corticoides prenatales en el recién nacido pretérmino	96
Figura 4.4.	Clasificación de la sepsis en 3 grupos	98
Figura 4.5.	Clasificación de la sepsis en función de la gravedad	102
Figura 4.6.	Gráfico que muestra la evolución de los leucocitos a los largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis	103
Figura 4.7.	Gráfico que muestra la evolución de los Neutrófilos a los largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis	105
Figura 4.8.	Gráfico que muestra la evolución de la PCR a los largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis	104
Figura 4.9.	Gráfico que muestra la evolución de la PCT a los largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis	105
Figura 4.10.	Gráfico de la evolución de la melatonina en la sepsis poco probable y en la sepsis clínica o confirmada	110

Figura 4.11.	Curva ROC para niveles de melatonina a las 12 horas del diagnóstico	112
Figura 4.12.	Gráfico que muestra la evolución de la melatonina en la sepsis clínica o confirmada no grave y en la sepsis grave	115
Figuras 4.13 y 4.14.	Gráficos que muestran la evolución de la melatonina y de la FiO ₂ en la sepsis neonatal	119
Figuras 4.15 y 4.16.	Gráficos que muestran la evolución de la melatonina y del ácido láctico en la sepsis neonatal	120,121
Figura 5.1.	Gráfico de la evolución de la melatonina en la sepsis poco probable y en la sepsis clínica o confirmada	139
Figura 5.2.	Gráfico que muestra la evolución de la melatonina en la sepsis clínica o confirmada no grave y en la sepsis grave	146
Figuras 5.3 y 5.4.	Gráficos que muestran la evolución de la melatonina y de la FiO ₂ en la sepsis neonatal	150
Figuras 5.5 y 5.6	Gráficos que muestran la evolución de la melatonina y del ácido láctico en la sepsis neonatal	152,153
Figura 5.7.	Vía metabólica de producción de ácido láctico	154

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

AFMK: N(1)-acetyl-N(2)-formyl-5- methoxykynuramina

AMK: N(1)-acetyl-5-methoxykynuramina

EGB: Estreptococo del grupo B

CPAP: presión positiva continua en la vía aérea

DS: desviación estándar

DSPS: delayed sleep-phase syndrome

E. coli: Escherichia coli

ECoN: Estafilococo coagulasa negativo

EG: edad gestacional

FiO₂: fracción inspirada de oxígeno

g: gramos

GnRH: hormona liberadora de gonadotropina

GM-UFC: células progenitoras de granulocitos y macrófagos

GN: gafas nasales

GPx: glutatión peroxidasa

HClO: ácido hipocloroso

II: índice Infecioso

IL-1 β : interleuquina 1 β

IL-6: interleuquina 6

IL-8: interleuquina 8

LCR: líquido cefalorraquídeo

LPS: lipopolisacáridos

MAO: monoaminooxidasa

MDA: malondialdehído

mm³: milímetro cúbico

MPO: mieloperoxidasa

NO: óxido nítrico

O₂: oxígeno

PCR: proteína C reactiva

PCT: procalcitonina

PMN: polimorfonucleares

REA: reanimación

RIA: radioinmunoensayo

RNS: especies reactivas de nitrógeno, por *reactive nitrogen species*

RNT: recién nacido a término

RNPT: recién nacido pretérmino

ROS: especies reactivas de oxígeno, por *reactive oxygen species*

SFS: síndrome de Sanfilippo

SGB: estreptococo beta-hemolítico del grupo B

SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

SMS: síndrome de Smith-Magenis

SOD: superóxido dismutasa

TDAH: trastorno por déficit de atención e hiperactividad

Th: linfocitos T helper

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa

UCI: unidad de cuidados intensivos

UCIP: unidad de cuidados intensivos pediátricos

UFC: unidades formadoras de colonias

VAFO: ventilación mecánica de alta frecuencia

VMC: ventilación mecánica convencional

VPN: valor predictivo negativo

VPP: valor predictivo positivo

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración y el esfuerzo de muchas personas que han contribuido a su desarrollo ya que la elaboración de una tesis doctoral no es un trabajo individual, sino el esfuerzo y colaboración de muchas personas.

En primer lugar, quiero dar las gracias a mis dos codirectores de tesis: al Dr. Luis Madero, catedrático de Pediatría de la Universidad Autónoma de Madrid y Jefe de Servicio de Oncología del Hospital Infantil Niño Jesús, por su apoyo en este proyecto con su conocimiento y supervisión, y al Dr. Jose Jiménez, doctor en Medicina por la Universidad de Alcalá de Henares y Jefe de Servicio de Pediatría del Hospital La Moraleja, que me dio el impulso inicial para empezar este proyecto y me ha orientado en el desarrollo de este trabajo. A ambos les agradezco su confianza y afecto.

En segundo lugar quiero mostrar mi gratitud al Hospital Sanitas La Moraleja, que ha financiado el proyecto del cual este estudio forma parte.

Quiero agradecer a todo el equipo de la Unidad Neonatal del Hospital La Moraleja, en especial a María y al resto de mis compañeras neonatólogas: Gema, Montse, Mariela, Mar, Arantxa, Blanca, Helena, Gus y Carolina, por haber acogido con entusiasmo este proyecto, por su interés, su apoyo y esfuerzo en la recogida de datos. Asimismo quiero dar las gracias a todo el equipo de enfermeras y auxiliares de la unidad. También quiero mostrar mi agradecimiento a los miembros del laboratorio de nuestro centro, en especial a Luis Carlos y a Raquel, por llevar el control meticuloso de las muestras de melatonina.

Agradezco a Rosario Madero, bioestadística del Hospital Universitario La Paz, por su paciencia y afecto, y su gran contribución para el análisis estadístico de los datos. También a Nazaret por su ayuda con la estadística.

Un agradecimiento especial a los pacientes y sus familias. A todos ellos un profundo respeto.

Por último, quiero dar las gracias a mi familia, a mis padres por haberme transmitido su capacidad de trabajo y esfuerzo. A Carlos, mi marido, por su gran apoyo. A Carlitos, mi hijo, perdón mi amor por haberte quitado tanto tiempo. A Ada, gracias por cuidar tan bien de lo que más quiero y permitirme dedicar tantas horas a estudiar.

Muchísimas gracias a todos.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA MELATONINA

1.1.1. GENERALIDADES E HISTORIA DE LA GLÁNDULA PINEAL

La melatonina (aMT) o N-acetil-5-metoxi-triptamina es una hormona producida principalmente en la glándula pineal a partir del triptófano y secretada a la sangre y líquido cefalorraquídeo. A la melatonina se le atribuyen, entre otras, funciones neurohormonales incluyendo la regulación del ritmo circadiano. Tiene importantes propiedades antioxidantes, inmunomoduladoras, hematológicas, gastrointestinales, renales, anticonvulsivantes y otras todavía no muy bien definidas.

La glándula pineal se encuentra situada sobre el techo del tercer ventrículo cerebral, por encima de los tubérculos cuadrigéminos del mesencéfalo. Presenta forma cónica y se encuentra unida al diencefalo por el tallo pineal, este último se continúa a su vez con el tercer ventrículo. También denominada epífisis cerebral al ser la evaginación superior del diencefalo, en contraposición a la glándula pituitaria o hipófisis que se encuentra en la parte inferior. Transmite señales al cerebro y otros órganos a través de su hormona, la melatonina (Muñoz- Hoyos A 2002).

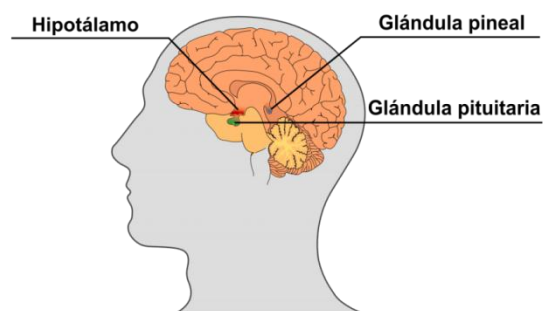


Figura 1.1. Anatomía de la glándula pineal (fuente: comocualquiera.com).

Es uno de los tejidos corporales con mayor flujo sanguíneo en relación a su peso que en el adulto es de unos 150 mg (Reiter RJ, The mammalian pineal gland: structure and function 1981). Su irrigación viene de vasos de la piamadre, ramas de las arterias coroidales posteriores que derivan de la cerebral posterior.

Está innervada por fibras simpáticas postganglionares de origen periférico, procedentes del ganglio cervical superior como ya sugirió Santiago Ramón y Cajal en 1904 (Ramon y Cajal 1904), cuyo neurotransmisor es la noradrenalina. También tiene innervación serotoninérgica de origen central (Vollrath L 1985).

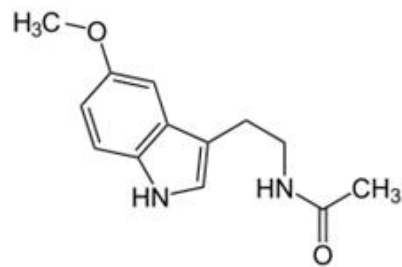
La glándula pineal se conoce desde hace más de 2000 años, la primera descripción se atribuye a Herófilo de Alejandría, en el siglo III a.C. quien la vinculó a funciones de control del “flujo del pensamiento”. Posteriormente Galeno, en el siglo II d.C., la llamó *conarium* (cono de piña) al describir su anatomía. Pineal deriva del latín *pinealis* siendo *pineae* igual a piña en latín. En 1543 Andrés Vesalio aportó una descripción anatómica precisa de la glándula pineal en su obra “*De Humanis Corporis Fabrica*” y unos años más tarde René Descartes en su libro “*De Homine*” calificó a la pineal como el lugar donde reside el alma, pensaba que los estímulos percibidos por los ojos iban al cerebro y de allí a la glándula pineal.

En el siglo XIX se estudió la glándula pineal desde el punto de vista anatómico, embriológico e histológico y se postuló sobre si la glándula pineal pudiera tener funciones endocrinas. Esto se confirmó cuando Heubner publicó el caso de 3 niñas con pubertad precoz que presentaban tumores pineales (Heubner O 1898).

Durante el siglo pasado se fueron conociendo en mayor profundidad las funciones de la glándula pineal. Altschule y Kitay descubrieron que la pinealectomía aceleraba el crecimiento de los ovarios en ratas, mientras que la

administración de extracto bovino de pineal tenía el efecto contrario (Kitay JI, Effects of pineal extract administration on ovary weight in rats 1954). Estos autores, haciendo una revisión de la bibliografía existente hasta el momento, publicaron en 1954 el libro *The pineal gland*. En el concluyeron que las tres funciones probables del órgano pineal eran: el control de la función gonadal, la participación en la respuesta cromática de la piel en los vertebrados inferiores a los cambios de la luz ambiental y un vínculo con los trastornos del comportamiento (Kitay JI, Altschule MD 1954).

Pero sin duda el gran paso en el conocimiento de la glándula pineal fue el aislamiento del factor endocrino responsable de su actividad funcional. En este sentido, ya en 1917 McCord y Allen vieron que la glándula pineal contenía un compuesto capaz de aclarar la piel de los renacuajos (McCord CP 1917). Basándose en este estudio, en 1958, el dermatólogo americano Aaron Lerner, de la Universidad de Yale, en un intento de encontrar un tratamiento para el vitíligo, identificó, a partir del procesamiento de 250.000 pineales bovinas, la estructura química de dicho compuesto como N-acetil-5-metoxi-triptamina y la llamó melatonina (del griego *melas*, negro u oscuro). Le dio este nombre al relacionar por un lado su función con el pigmento melanina (“mela”), ya que era capaz de aclarar las células que producían melanina, y por otro lado su estructura con la serotonina (“tonina”) (Lerner AB 1958). Aunque no funcionó en los pacientes con vitíligo como Lerner pretendía, este descubrimiento supuso quizá el paso más importante en la historia de la investigación pineal, debido a que permitió demostrar que una sustancia química, sintetizada en la glándula pineal tenía una función endocrina.



Figuras 1.2. y 1.3. A la izquierda, Aaron B. Lerner en una fotografía de 1971. El equipo de Lerner, fue el responsable del aislamiento de la melatonina; A la derecha, estructura química de la melatonina (Tan DX 2002).

Pocos años después otros autores vieron que la exposición continuada a la luz disminuía el peso de la pineal en las ratas (Fiske VM 1960) y que la pinealectomía, la exposición a la luz o ambas aceleraba el crecimiento de los ovarios en ratas y que este efecto se bloqueaba administrando extractos de pineal (R. W. Wurtman RJ 1961). Parecía que esta función de la glándula pineal sobre el sistema reproductivo de los mamíferos estaba regulada por la luz ambiental, la luz actuaría indirectamente a través de conexiones nerviosas simpáticas entre la retina y la glándula pineal (A. J. Wurtman RJ 1963). Se vio que el mediador químico de estas señales nerviosas era la noradrenalina que estimulando beta-receptores aumentaba la producción de AMP cíclico en la pineal (S. H. Wurtman RJ 1971) (Axelrod J 1969) (Shein HM 1969).

Finalmente, en 1975, se descubrió que la secreción de melatonina en humanos, tal como años atrás se había visto en animales, seguía un ritmo circadiano, con concentraciones nocturnas al menos 10 veces más elevadas que las diurnas (Lynch HJ 1975).

En los últimos años numerosos estudios han permitido conocer mejor, como veremos posteriormente, las distintas funciones y mecanismos de acción de la melatonina siendo actualmente la investigación en este terreno amplísima no solo en la disciplina médica sino en el campo de la biología, fisiología, etc.

1.1.2. SÍNTESIS Y REGULACIÓN DE LA MELATONINA

La melatonina es una molécula de al menos dos mil millones de años, que esta presente en animales, tanto vertebrados como invertebrados, plantas, bacterias, hongos y organismos unicelulares. Se cree que por su potente efecto antioxidante, apareció con la misión de neutralizar el efecto dañino del oxígeno como productor de radicales libres. Con el transcurso de la evolución ha ido adquiriendo otras funciones hormonales.

La síntesis de melatonina tiene lugar fundamentalmente en la glándula pineal pero también en otros tejidos como retina, cuerpo ciliado del iris, glándula lacrimal, médula ósea, aparato digestivo, ovario, sistema inmune y sistema portal hepático. La concentración de melatonina en los tejidos es mucho mayor que la del plasma (D. T. Reiter RJ 2003).

En la glándula pineal, la melatonina se sintetiza a partir del triptófano, aminoácido esencial. Entra en el pinealocito desde los capilares sanguíneos a través de un transporte activo bajo control adrenérgico y a través de la enzima triptófano-hidroxilasa pasa a 5-hidroxitriptófano. Posteriormente se descarboxila por la L- triptófano descarboxilasa para formar 5- hidroxitriptamina o serotonina.

La serotonina tiene dos vías de metabolización en la glándula pineal. Puede desaminarse por la enzima monoaminoxidasa (MAO), o convertirse en melatonina por acción de dos enzimas que actúan sucesivamente. Primero, la N-acetil-transferasa (NAT) que la transforma en N-acetil-serotonina y posteriormente, la enzima hidroxiindol-O-metil transferasa (HIOMT), que le

transfiere un grupo metilo para, finalmente, dar lugar a la N-acetil-5-metoxitriptamina o melatonina (Axelrod J 1969).

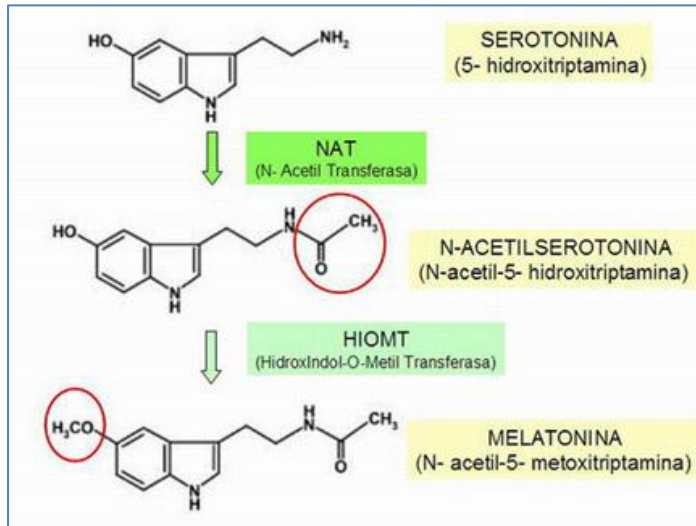


Figura 1.4. Síntesis de melatonina a partir de la Serotonina (Fuente: melatonina10.blogspot.com).

La actividad de la N- acetiltransferasa presenta un marcado ritmo circadiano y determina el ritmo pineal de producción de melatonina (Hardeland R 2008). La expresión de la enzima se puede regular por una vía nerviosa controlada por el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, el llamado “reloj biológico”. Esta vía comienza en la retina, de allí se dirige al núcleo supraquiasmático y pasando por la columna intermediolateral de la médula espinal torácica alcanza el ganglio cervical superior (Cardinali DP 1981). Finalmente, las fibras postganglionares se introducen en el parénquima pineal y llegan a los pinealocitos.

El estímulo lumínico mantiene a los fotorreceptores hiperpolarizados lo que hace que no se libere, al final de esta vía nerviosa, noradrenalina. Por el contrario, durante la noche, los fotorreceptores generan señales conducidas hasta los terminales simpáticos y se libera noradrenalina que se une a

receptores α_1 y β_1 adrenérgicos del pinealocito (Reiter RJ, Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions 1991). Esta unión desencadena una reacción bioquímica intracelular, que se traduce en un incremento de la expresión y actividad de la N-acetiltransferasa, con la consecuente elevación de las concentraciones de N-acetilserotonina y melatonina (R. R. Hardeland R 1993).

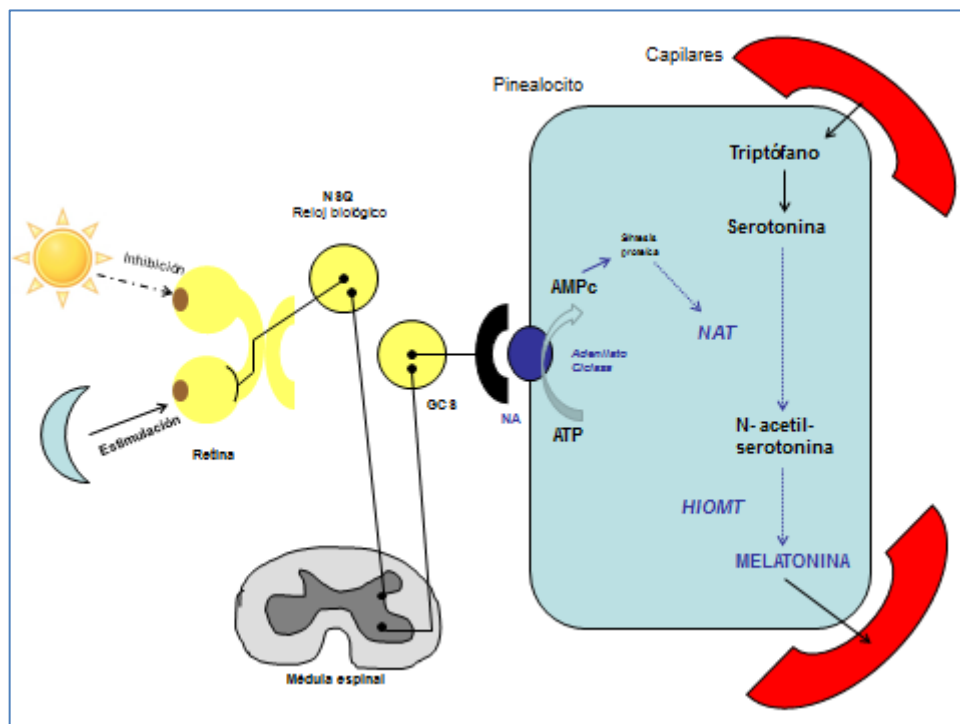


Figura 1.5. Vía nerviosa de regulación de la síntesis de melatonina. NSQ: núcleo supraquiasmático, GCS: ganglio cervical superior, NA: noradrenalina, NAT: N-acetil-transferasa, HIOMT: hidroxindol-O-metil transferasa.

Al tener una estructura indólica, la melatonina es una molécula bastante liposoluble y tras ser sintetizada atraviesa fácilmente, por difusión simple, la membrana del pinealocito hasta los capilares sanguíneos, también atraviesa la barrera hematoencefálica. La concentración de melatonina en sangre circulante refleja de forma muy exacta los cambios en la concentración de

melatonina en la pineal (Wilkinson M 1977) ya que la vida media de la melatonina circulante es inferior a una hora. Se transporta en plasma en su mayor parte, un 70%, unida a la albúmina y el resto en forma libre.

El factor más importante que regula la síntesis de melatonina por la glándula pineal es el ciclo luz- oscuridad. Los niveles plasmáticos de melatonina siguen un ritmo circadiano y están condicionados por la duración del ciclo luz/oscuridad con concentraciones más elevadas durante la noche (Reiter RJ, Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions 1991). Como hemos visto previamente, este ritmo va paralelo al ritmo de la actividad de la N-Acetiltransferasa, existiendo numerosos estudios a este respecto en animales (Klein DC, Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. 1970) (Klein DC, Rapid light-induced decrease in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. 1972) (V. J. Illnerova H, Response of rat pineal serotonin-N-acetyltransferase to one min light pulse at different night times. 1979). Se ha visto que la sensibilidad de la glándula pineal a la luz varía ampliamente entre distintas especies (H. E. Reiter RJ 1983). En el hombre también se ha demostrado que la exposición a la luz durante la noche disminuye la síntesis de melatonina (Lewy AJ 1980).

La secreción de melatonina también se ve influida por los cambios estacionales según la duración del fotoperiodo, como demuestran numerosos estudios realizados en animales (V. J. Illnerova H, Pineal rhythm in N-acetyltransferase activity in rats under different artificial photoperiods and in natural daylight in the course of the year. 1980) (S. A. Arendt J 1981) (H. K. Illnerova H 1986), así en fotoperiodos largos como en verano la secreción es menor, y mayor durante el invierno.

Los niveles de melatonina también varían con la edad, aumentando progresivamente desde el nacimiento hasta el segundo año de vida en que se alcanza su pico máximo. Posteriormente se produce un descenso lento hasta la

pubertad en que inician el descenso hasta alcanzar los niveles del adulto. En el adulto se ha observado que los niveles de melatonina descienden progresivamente con la edad (Iguchi H 1982) (L. A. Sack RL 1986).

El metabolismo de la melatonina tiene lugar en su mayor parte en el hígado donde a través del citocromo p450 se transforma en 6-hidroximelatonina (Ma X 2005) y tras conjugación es eliminada por la orina.

1.1.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA MELATONINA

La melatonina ejerce sus funciones a través de dos mecanismos de acción diferentes, mediados por unión a receptor, ya sea de membrana o nuclear y de forma independiente de receptor.

El desarrollo de la 2-[125I]iodomelatonina, un agonista del receptor de melatonina de alta afinidad, como radioligando, ha permitido examinar la distribución y características de los receptores de la melatonina en varias especies (Morgan PJ 1994) (Vanecek J 1998).

Los receptores de membrana son receptores protéicos y se pueden dividir a su vez en receptores de alta afinidad (MT1 y MT2) y receptores de baja afinidad (MT3). Los receptores MT1 y MT2 corresponden a la familia de receptores de 7 dominios transmembrana acoplados a proteína-G. Ejercen su acción mediante la inhibición de la adenilato ciclasa lo que conlleva una disminución del adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) intracelular. Los receptores MT1 se expresan en cerebro, fundamentalmente en el núcleo supraquiasmático, el hipotálamo y la pars tuberalis de la adenohipófisis (Vanecek J 1987) (Williams LM 1988) (Weaver DR 1989). Los MT2 se encuentran en la retina y otras estructuras cerebrales (Reppert SM 1995).

Los receptores nucleares son proteínas que se encuentran en el interior del núcleo, capaces de unirse a la región reguladora de algunos genes. Estas proteínas, al unirse a su ligando específico se activan, de forma que regulan la actividad de la ARN polimerasa II, necesaria para la transcripción génica. Se han clonado varios receptores nucleares de melatonina que pertenecen a la superfamilia del receptor de ácido retinoico. Aunque no se conocen bien del todo sus funciones en el momento actual, estos receptores están implicados en la inhibición de la inflamación por la melatonina (Carrillo-Vico A 2005).

Entre sus mecanismos de acción de forma independiente de receptor estarían la unión de la melatonina con proteínas intracelulares como calmodulina, calreticulina y protein kinasa C (PKC) y su acción como detoxificadora de radicales libres.

1.1.4. FUNCIONES DE LA MELATONINA

La melatonina es una hormona con gran diversidad funcional. Posee numerosas funciones, bien conocidas son su relación con el sistema neuroendocrino- reproductor y la regulación de los ritmos biológicos, así como su función antioxidante. Además existe evidencia sobre su implicación en numerosas funciones como por ejemplo antiinflamatoria, potenciadora del sistema inmune, inhibidora de la progresión tumoral, analgésica, moduladora mitocondrial, etc.

1.1.4.1. Función antioxidante

El metabolismo basado en el oxígeno confiere un coste para los organismos, siendo el oxígeno indispensable para la vida de los organismos aeróbicos, constituye una fuente de daño para los mismos. Ello es debido a que como resultado de la utilización del oxígeno en el organismo, se generan

productos altamente tóxicos y dañinos, se generan radicales libres. Un radical libre se define como una especie química, en general altamente inestable, y por tanto con gran poder reactivo, por poseer un electrón desapareado. Los radicales libres confieren daño a macromoléculas del organismo como el ADN, lípidos y proteínas.

Para contrarrestar esta producción de radicales libres el organismo dispone de un sistema de defensa antioxidante que utiliza multitud de compuestos endógenos y exógenos. Pero este sistema no es perfecto y no siempre consigue neutralizar estos radicales libres, lo que genera un daño oxidativo en el organismo, estando este en relación directa con el proceso del envejecimiento y con el cáncer (M. D.-W.-C. Reiter RJ 1995).

Un mecanismo de acción de la melatonina, independiente de la interacción con receptores o con proteínas celulares, es su interacción con radicales libres protegiendo al ADN, las proteínas y los lípidos del daño oxidativo. Es capaz de neutralizar los oxidantes más tóxicos generados por la célula que son el radical hidróxilo (OH^\cdot) y el anión peroxinitrito (ONOO^-). También neutraliza el oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogeno (H_2O_2), óxido nítrico (NO) y ácido hipocloroso (HClO).

Además de la melatonina, numerosos metabolitos que se forman cuando esta interacciona con los radicales libres, constituyen también efectivos antioxidantes (P. S. Reiter RJ 2009). El primero de estos metabolitos en ser descubierto fue la 3-hydroximelatonina cíclica, potente depurador de radicales libres y que en el camino se transforma en N(1)-acetyl-N(2)-formyl-5-methoxykynuramina (AFMK). Este último también resulta de la reacción de la melatonina con el H_2O_2 y es un efectivo antioxidante que en su interacción con los radicales libres genera N(1)-acetyl-5-methoxykynuramina (AMK). Ello hace que la melatonina sea altamente eficiente en reducir el daño oxidativo y que podamos hablar de la “*cascada antioxidante de la melatonina*”.

Además de su acción antioxidante directa posee efectos indirectos ya que estimula la actividad y expresión de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, glutatión catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (P. S. Reiter RJ 2009) (Rodríguez C 2004) (Tomás-Zapico C 2005).

1.1.4.2. Regulación de los ritmos biológicos y el sueño

La glándula pineal mediante la melatonina, su principal producto de secreción, constituye el mediador de la respuesta fisiológica a los ritmos anuales y circadianos. Actúa como nexo de unión entre los sistemas nervioso y endocrino y el medio ambiente luminoso. La secreción de melatonina sigue un marcado ritmo circadiano que se rige por el marcapasos circadiano central (reloj biológico) en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo.

Uno de los usos iniciales de la melatonina en el hombre fue como tratamiento del *jet lag* tras los viajes transatlánticos (A. M. Arendt J 1986). Como consecuencia de resultados como este, la melatonina ha sido clasificada como un cronobiótico considerando sus acciones en los ritmos circanuales y circadianos (Arendt J 2006). La melatonina señala la hora del día y época del año en los mamíferos en función de su patrón de secreción. El ritmo de melatonina (como lo demuestra su perfil en plasma, saliva o de su principal metabolito, 6-sulfatoxymelatonina en orina) es el mejor índice periférico de la sincronización del marcapasos circadiano humano.

Un gran número de publicaciones han mostrado que la administración de melatonina exógena actúa como un cronobiótico, produciendo somnolencia y adelantando el inicio del sueño cuando se administra durante la tarde (Zawilska JB 2009). Un signo evidente de la alteración del ritmo circadiano es la mala calidad del sueño, constituyendo la melatonina un eficaz tratamiento para estos trastornos.

1.1.4.3. Regulación de la reproducción

Hace más de un siglo se estableció la relación entre la glándula pineal y el desarrollo sexual. Heubner describió el caso de 3 niños con pubertad precoz que presentaban tumores en la glándula pineal (Heubner O 1898). Posteriormente numerosos trabajos relacionan la glándula pineal con la reproducción en mamíferos.

En circunstancias naturales, la duración del pico nocturno de melatonina es inversamente proporcional a las horas de exposición a la luz. Por tanto en verano los picos de melatonina duran menos que en el invierno. Estos cambios estacionales en los patrones de secreción de melatonina proporcionan información al organismo sobre cada época del año y constituyen una señal esencial para las fluctuaciones anuales de la capacidad reproductora de los animales (Reiter RJ, The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals 1980). Esto se produce con independencia de si el animal es activo desde el punto de vista reproductivo en el verano o en el invierno, es decir, la melatonina no es ni antigonadotrópica ni progonadotrópica, simplemente envía una señal al organismo que se interpreta de una manera u otra dependiendo de la especie. En aquellas especies que tienen ciclos anuales de fertilidad e infertilidad la melatonina tiene una función reguladora del ciclo reproductor lo que garantiza que las crías nazcan en la época del año más favorable para su supervivencia.

En el ser humano se ha propuesto que la melatonina es la hormona que a elevadas concentraciones mantiene inhibido el generador hipotalámico de pulsos de GnRH (Silman R 1991) y su descenso en el periodo prepuberal facilitaría la aparición de la misma (W. G. Waldhauser F 1984) (Murcia Garcia J 2002).

1.1.4.4. Inmunomodulación

En los últimos años el efecto inmunomodulador de la melatonina ha suscitado un gran interés. En 1975 se vio que la pinealectomía en ratones producía una involución del timo (Csaba G 1975) y en 1986, Maestroni demostró que la inhibición de la síntesis de melatonina provocaba la inhibición de respuestas celulares y humorales en ratones y esto se revertía con la administración de melatonina (Maestroni GJ 1986). Posteriormente numerosos estudios han demostrado la relación entre la melatonina y el sistema inmunológico.

Un gran número de estudios apoyan la acción inmonomoduladora de la melatonina en la inmunidad innata (Srinivasan V 2005). La melatonina se produce en los leucocitos incluidos los monocitos, eosinófilos, mastocitos, Linfocitos T, células Natural Killer (NK) y en las células de la médula ósea. Los leucocitos poseen receptores de membrana (MT1 y MT2) y receptores nucleares para la melatonina. La melatonina estimula la producción de células progenitoras de granulocitos y macrófagos (GM-UFC) y tiene una acción estimulante directa de la hematopoyesis. La estirpe de monocitos/macrófagos posee receptores para melatonina y su acción estimula la producción GM-UFC. Se ha observado que la melatonina exógena aumenta las células NK y los monocitos tanto en bazo como en la médula ósea con una latencia de 7 a 14 días (Currier NL 2000). Además de los monocitos, también los precursores de granulocitos aumentan en médula ósea tras administración de melatonina. Se han aislado receptores de membrana para melatonina en los Linfocitos B y los Linfocitos T y se ha visto que los mononucleares sintetizan cantidades importantes de melatonina.

La melatonina también regula el sistema inmune a través de las citoquinas. Aumenta la producción de citoquinas por los monocitos entre ellas la IL-12 que favorece la diferenciación de los Linfocitos T helper (Th) a Th1 y también aumenta la producción de IFN-gamma por las células Th1 (Garcia-

Maurino S 1999). La melatonina aumenta la producción y la actividad de las células Natural Killer y esto último se atribuye a la mayor producción de IL-2 y de IL-12. También se ha visto que la melatonina aumenta la supervivencia de los linfocitos B maduros participando por tanto en la inmunidad humoral (Yu Q 2000).

Aunque la mayoría de estudios catalogan a la melatonina como un potenciador del sistema inmune, otros han sugerido que la melatonina podría actuar como antiinflamatorio por inhibición de las respuestas inmunes. Esta acción antiinflamatoria parece, al menos en parte, debida a la estimulación de la producción de interleuquina 4 por los Linfocitos T helper tipo 2 (Th2) y a la inhibición de la función de los Th1 (Shaji AV 1998). La melatonina posee un efecto pleiotrópico en las diferentes etapas de la respuesta inflamatoria. Tiene efecto proinflamatorio en las etapas iniciales por activación de mediadores proinflamatorios como la fosfolipasa A2, la lipooxigenasa y citoquinas como la IL-1 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α). Por el contrario, cuando el proceso inflamatorio se encuentra en una fase crónica la melatonina tendría el efecto contrario, actuando como antiinflamatoria disminuyendo los mediadores de la inflamación como fosfolipasa A2, la lipooxigenasa y citoquinas, regulando la vida útil de los leucocitos por interferir en los procesos apoptóticos y neutralizando el daño oxidativo en los tejidos inflamados (Radogna F 2010).

1.1.4.5. Melatonina y cáncer

Existe suficiente evidencia que demuestra que la melatonina está implicada en prevenir el inicio y progresión del cáncer. Muchos tumores se desarrollan tras el daño del ADN cuando fallan los mecanismos de reparación y este daño al ADN es debido frecuentemente a los radicales libres. La melatonina neutraliza los radicales libres y protege al ADN del daño oxidativo pero además es capaz de ayudar en su reparación una vez este ha sido dañado (Sliwinski T 2007). Debido a estas dos acciones la melatonina es

capaz de frenar el inicio de la transformación tumoral y por tanto la frecuencia del cáncer.

Numerosos estudios han hecho que podamos considerar a la melatonina como agente oncostático debido a su capacidad de inhibir la progresión tumoral (Kormaz A 2009) (Blask DE 2005) (Vijayalaxmi Thomas CR Jr 2002). Debido a la multitud de acciones de la melatonina, los mecanismos involucrados en su capacidad para contrarrestar el crecimiento tumoral son múltiples, entre ellos estarían su capacidad antioxidante, la regulación de la expresión y transactivación del receptor estrogénico, modulación de las enzimas implicadas en la síntesis local de estrógenos, la modulación del ciclo celular y la inducción de la apoptosis de las células tumorales, la inhibición de la actividad de la telomerasa, inhibición de metástasis, efecto antiangiogénico, estimulación de la diferenciación celular y activación del sistema inmune (Mediavilla MD 2010).

La melatonina se ha mostrado eficaz como tratamiento en los tumores sólidos con mejoría significativa de la remisión tumoral, supervivencia al año y mitigación de efectos secundarios relacionados con la radioterapia y quimioterapia (Wang IM 2012).

1.2. LA MELATONINA EN EL NIÑO

1.2.1. VARIACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE MELATONINA EN FUNCIÓN DE LA EDAD

Durante la vida intrauterina, el feto recibe la melatonina de la madre. (Okatani Y 1998). A través de la placenta la melatonina llega a todos los tejidos del feto y por tanto la melatonina materna conduce a los ritmos circadianos fetales. Tras el nacimiento, aunque el núcleo supraquiasmático y la glándula pineal maduran precozmente en la vida fetal (Serón-Ferré M 2001), el circuito neurológico que controla dichas estructuras no, por lo que no existe un ritmo circadiano de secreción de melatonina. Se ha observado que el patrón circadiano de secreción de melatonina aparece entre los 2 y los 4 meses de vida estando retrasado en el recién nacido pretérmino (S. G. Kennaway DJ 1992) (G. F. Kennaway DJ 1996) (Ardura J 2003).

La secreción de melatonina es baja al nacimiento y se incrementa significativamente en el periodo neonatal precoz (primeras 72 horas de vida), esto se cree que es debido a la inmadurez hepática fisiológica con menor tasa de metabolización (Molina Carballo A 1996).

Se ha intentado relacionar los niveles de melatonina en el recién nacido con diferentes variables. En el estudio de Jaldo et al. se vio que la privación de luz en el recién nacido aumentaba significativamente la síntesis de melatonina a las 24, 48 y 72 horas de vida. Aunque el ritmo circadiano de secreción de melatonina no existe al nacimiento si se vio que esta secreción era sensible a cambios en la iluminación del entorno. Por ello, estos autores sugieren que una determinada madurez en la función del núcleo supraquiasmático este presente al nacimiento (Jaldo-Alba F 1993). Sin embargo, otro estudio realizado en recién nacidos pretérmino de entre 33 y 36 semanas de edad gestacional no encontró diferencias en la secreción de melatonina entre el grupo expuesto y el no expuesto a la luz ambiental

(Mantagos S 1996). Esto sería más concordante con la ausencia de ritmo circadiano en la secreción de melatonina del recién nacido objetivada en varios estudios, considerando que el ritmo circadiano de la melatonina esta condicionada por el ciclo luz/oscuridad.

Tauman et al. investigaron la posible relación entre la excreción urinaria del principal metabolito de la melatonina, la 6- sulfatoximelatonina, en el recién nacido, con diferentes variables pre y perinatales y el desarrollo psicomotor. Se objetivó que los niveles de 6- sulfatoximelatonina a las 16 semanas de edad eran significativamente menores en niños que tenían retraso psicomotor a los 3 y 6 meses de edad (Tauman R 2002). Esta asociación sugiere una unión causal o predictiva entre la melatonina y el neurodesarrollo en los niños.

En otro estudio se determinó la excreción urinaria nocturna de 6- sulfatoximelatonina en el recién nacido a término sano a las 8 y 16 semanas de vida. Se objetivó un efecto significativo del mes de nacimiento en la producción de 6- sulfatoximelatonina en los niños de 8 semanas de edad con máximos niveles en los niños nacidos en Junio (solsticio de verano) y mínima en los niños nacidos en Diciembre (solsticio de invierno). En cambio, estas variaciones estacionales ya no estaban presentes a las 16 semanas de vida lo que sugiere la influencia prenatal del fotoperiodo en la ontogenia de la melatonina (Sivan Y 2001).

En el recién nacido pretérmino con distrés respiratorio se ha observado relación entre el peso al nacimiento y los niveles de melatonina en la primera semana de vida, siendo mayor en los de peso al nacimiento mayor a 1.500 g que en los de menor peso (B.-P. A.-V.-R.-N.-C. Muñoz-Hoyos A 2007).

Tras el nacimiento, la secreción de melatonina va aumentando de forma progresiva hasta alcanzar un pico máximo entre el año y los 3 años de vida, a partir de este momento los picos nocturnos de melatonina van descendiendo progresivamente un 80%, hasta alcanzar los niveles del adulto joven

(Attanasio, Borrelli y Gupta 1985) (S. H. Waldhauser F 1986). Se ha observado que se produce un descenso significativo de la secreción de melatonina, sobre todo durante la noche, en la etapa prepuberal y durante la misma (W. G. Waldhauser F 1984) (Murcia Garcia J 2002), lo que ha llevado a proponer que la glándula pineal desempeñaría un papel primordial en el inicio de la pubertad que estaría facilitada por este descenso de la secreción de melatonina. Los niveles de melatonina se mantienen estables en el adulto y posteriormente experimentan un nuevo descenso en la senectud (Iguchi H 1982) (L. A. Sack RL 1986).

1.2.2. LA MELATONINA EN EL RECIÉN NACIDO.

1.2.2.1 Estrés oxidativo en el recién nacido.

El recién nacido y en especial el recién nacido pretérmino son extremadamente susceptibles al estrés oxidativo (R. R. Gitto E 2002). Existen varias razones que llevan a esto, son expuestos a elevadas concentraciones de oxígeno, presentan infecciones e inflamación, tienen disminuidos los mecanismos de defensa antioxidante y poseen elevadas cantidades de hierro libre que se requiere para la reacción de Fenton que conlleva a la producción del altamente tóxico radical hidróxilo.

El estrés oxidativo claramente contribuye a la severidad de numerosas patologías que afectan al recién nacido, y en especial al recién nacido pretérmino. Esto hace que podamos hablar, como acuño Saugstad, de la *“patología por radicales libres del recién nacido”* (Saugstad OD 2005). El estrés oxidativo afecta a multitud de órganos, con frecuencia de forma simultánea, produciendo las diferentes patologías propias del recién nacido pretérmino. Estas incluyen la displasia broncopulmonar, la retinopatía de la prematuridad, y la enterocolitis necrotizante. Los radicales libres también se encuentran implicados en la patología de la leucomalacia periventricular (Haynes RL 2003),

así como en el ductus arterioso persistente (Clyman RI 1989) y la hipertensión pulmonar (Sanderud J 1993).

Como hemos comentado previamente, al nacimiento no existe un ritmo circadiano de secreción de melatonina lo que conlleva una deficiencia relativa de melatonina. Se ha observado que el patrón circadiano de secreción de melatonina aparece entre los 2 y los 4 meses de vida estando retrasado en el recién nacido pretérmino (S. G. Kennaway DJ 1992) (G. F. Kennaway DJ 1996) (Ardura J 2003). Por tanto el recién nacido pretérmino va a tener un déficit de melatonina más prolongado.

1.2.2.2. Posibilidades terapéuticas de la melatonina en el periodo neonatal.

- Melatonina en la asfixia perinatal.

El recién nacido, tanto a término como pretérmino posee un cerebro en desarrollo más vulnerable al daño hipóxico-isquémico, en el que interviene la toxicidad por radicales libres. Se ha propuesto que la melatonina podría ser un tratamiento neuroprotector eficaz en el recién nacido, tanto por neutralizar radicales libres como por inhibir su producción (Yuo JH 2006) (Wakatsuki A 2001).

En un estudio realizado en recién nacidos con encefalopatía hipóxico-isquémica se midieron malondialdehído (MDA), como producto de la peroxidación lipídica, y los niveles de nitratos/nitritos en el suero de 20 recién nacidos asfícticos antes y después de la administración de melatonina, en las primeras 6 horas de vida. En los 10 recién nacidos a los que se administró melatonina se objetivó un descenso significativo de MDA y de los niveles de nitratos/nitritos, con una supervivencia de todos los pacientes. Fallecieron 3 de

los 10 niños a los que no se administró melatonina (Fulia F 2001). La melatonina podría ser beneficiosa en los pacientes con asfixia perinatal.

- Melatonina en el distrés respiratorio del recién nacido pretérmino.

El distrés respiratorio es una patología inherente al recién nacido pretérmino. Los radicales libres juegan un importante papel en el desarrollo y complicaciones del mismo. Aunque no existen muchos estudios al respecto, se ha observado que el tratamiento con melatonina en prematuros con distrés reduce los niveles de citoquinas proinflamatorias y de nitratos/nitritos y mejora los resultados clínicos (R. R. Gitto E 2004).

En otros estudios realizados en 110 y 120 recién nacidos pretérmino con distrés respiratorio y ventilación mecánica se objetivó que el tratamiento con melatonina reducía las citoquinas proinflamatorias y mejoraba el resultado clínico (R. R. Gitto E 2005) (R. R. Gitto E 2004).

- Melatonina en la sepsis neonatal.

Numerosos artículos demuestran el importante papel que desempeñan los radicales libres en la sepsis neonatal y en sus complicaciones. Gitto et al. examinaron los cambios clínicos y en los niveles séricos de los productos de la peroxidación lipídica en neonatos con sepsis a los que se les administró melatonina en las primeras 12 horas tras el diagnóstico. La melatonina redujo los niveles de los productos de la peroxidación lipídica y mejoró los resultados clínicos (K. M. Gitto E 2001).

- Melatonina en la cirugía neonatal.

La utilidad de la melatonina para reducir el estrés oxidativo en relación a procedimientos quirúrgicos se investigó en 40 recién nacidos con diferentes patologías sometidos a cirugía. Se objetivó, en los pacientes que recibieron melatonina, un descenso significativo de los niveles séricos de diferentes citoquinas y otros mediadores inflamatorios demostrando una potente actividad antioxidante con mejoría del curso clínico (R. C. Gitto E 2004).

1.2.2.3. Melatonina y lactancia materna.

Se ha observado que la melatonina se excreta a través de la leche materna y que sigue un ritmo circadiano, con niveles elevados durante la noche y prácticamente indetectables durante el día. Se ha sugerido que estas fluctuaciones en los niveles de melatonina en la leche materna darían información sobre el periodo del día a los lactantes (Illnerová H 1993). Esta información podría contribuir a la consolidación de los ciclos vigilia-sueño hasta la maduración de su propio sistema circadiano. Otros estudios apoyarían la hipótesis de que este ritmo de melatonina en la leche materna mejoraría el sueño nocturno de los lactantes con respecto a los alimentados con fórmula artificial (Cubero J 2005) (Aparicio S 2007) (Cohen Engler A 2012).

1.2.3. POSIBILIDADES TERAPEÚTICAS DE LA MELATONINA EN EL NIÑO.

En los últimos años se han llevado a cabo numerosos ensayos clínicos para estudiar los posibles usos terapéuticos de la melatonina en los diferentes campos de la medicina. Las propiedades de la melatonina son extensas pero una de sus funciones mejor conocidas es la regulación de los ciclos vigilia-sueño. Por ello, no es de extrañar, que la principal aplicación de la melatonina

en el niño sea su uso en los trastornos del sueño de diferente etiología (Sanchez-Barcelo EJ 2011). En este sentido ha sido utilizada ampliamente sin haberse descrito efectos adversos significativos (Carr R 2007).

1.2.3.1 Melatonina en los trastornos del sueño.

Aunque los trastornos del sueño en el niño de diferente etiología constituyen un motivo frecuente de consulta, no existe un tratamiento farmacológico específico para el tratamiento del insomnio en el niño, y muchos pediatras recomiendan el tratamiento conductual para corregir los trastornos del sueño en la infancia. En los últimos años, cada vez son mas los especialistas que estan precribiendo la melatonina como tratamiento asociado a la terapia conductual (Owens JA 2003).

- Melatonina en las disomnias

La Academia Americana de Medicina del Sueño, en la Clasificación Internacional de los Trastornos del Sueño define la disomnia como una categoría dentro de los trastornos del sueño caracterizada por la dificultad para el inicio o el mantenimiento del sueño (American Academy of Sleep Medicine, ICSD- International classification of sleep disorders, revised: Diagnostic and coding manual. 2001).

Dentro de este grupo se encuentran los trastornos del sueño por alteración del ritmo circadiano. En el niño y el adolescente se presenta con frecuencia el síndrome de la fase del sueño retrasada, en inglés *delayed sleep-phase syndrome (DSPS)*, caracterizado por un retraso en el inicio del sueño nocturno. Estos niños estan despiertos hasta la madrugada y tienen gran dificultad para despertarse por la mañana. Se ha visto que el tiempo de inicio

de secreción nocturna de melatonina se encuentra retrasado en estos pacientes (Rahman SA 2009).

Numerosos ensayos clínicos han evaluado la eficacia de la melatonina como tratamiento en adultos. En niños un estudio retrospectivo describió los efectos a largo plazo del tratamiento con melatonina en 33 adolescentes con DSPS observando que la melatonina avanza el inicio del sueño y aumenta su duración, disminuyendo los problemas en el colegio (Szeinberg A 2006). Recientemente un ensayo clínico realizado en 72 niños ha demostrado que la melatonina es eficaz como tratamiento del insomnio incluso a dosis bajas (Van Geijlswijk IM 2010). Actualmente, podemos afirmar que la melatonina constituye un tratamiento eficaz en estos pacientes, existiendo una fuerte evidencia al respecto (Sack RL y Medicine 2007).

- Melatonina en los trastornos del sueño asociados a retraso mental, enfermedades neurológicas u otras patologías médicas.

Son numerosas las enfermedades neurológicas que asocian trastornos del sueño. La eficacia de la melatonina como tratamiento para estos trastornos ha sido demostrada en numerosos estudios en los que se ha visto que la melatonina disminuye la latencia del sueño, aumenta la duración total del mismo y disminuye el número de despertares nocturnos en los pacientes con discapacidad intelectual (Braam W 2009). La melatonina ha demostrado ser eficaz incluso en niños con trastornos severos del sueño en los que han fracasado otros tratamientos (E. H. Jan JE 1994).

Mención especial merece la utilidad de la melatonina en los niños con Síndrome de Smith-Magenis (SMS) y en el Síndrome de Sanfilippo (SFS), ambos caracterizados entre otros por alteraciones del sueño. Mientras que el ritmo de secreción de melatonina en condiciones normales exhibe un ritmo circadiano, con niveles elevados durante la noche y bajos durante el día, los

pacientes con SMS presentan una inversión del ritmo circadiano de secreción de melatonina. En el SFS también presentan una alteración de la secreción de melatonina con niveles mas bajos durante la noche con respecto a controles sanos. En estos pacientes es eficaz el tratamiento con melatonina (De Leersnyder H 2003) (Fraser J 2002).

También se ha utilizado con éxito en niños con retraso psicomotor severo (Pillar G 2000), en el Síndrome de Angelman (Zhdanova IV 1999) y en niños ciegos en los que con frecuencia se presentan trastornos del ciclo vigilia-sueño (Palm L 1997).

- Melatonina en los trastornos del sueño asociados al autismo.

El insomnio es frecuente en los niños con autismo y su naturaleza suele ser multifactorial habiéndose sugerido el papel etiológico de la melatonina en numerosos estudios (Miano S 2010) (Cortesi F 2010). Se ha observado que estos niños presentan niveles nocturnos de melatonina más bajos con respecto a niños sanos (Tordjman S 2005). En los últimos años se han realizado numerosos estudios que muestran la eficacia de la melatonina en el tratamiento del insomnio de los niños con trastornos del espectro autista (Guénolé F 2011) (Doyen C 2011).

- Melatonina en los trastornos del sueño asociados al trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH).

Los trastornos del sueño, incluyendo un retraso en el inicio del sueño, resistencia a irse a dormir, dificultad para el despertar matutino y somnolencia diurna, han sido descritos en el 25-50% de los niños con TDAH (S. J. Weiss MD 2010). Dos ensayos clínicos controlados, aleatorizados, doble ciego han demostrado la eficacia del tratamiento con melatonina con respecto al placebo,

que redujo de forma significativa la latencia de inicio del sueño (W. M. Weiss MD 2006) (Van der Heijden KB 2007).

Recientemente Hoebert et al. evaluaron el tratamiento a largo plazo (media de seguimiento de 3.7 años) con melatonina en los niños con TDAH e insomnio crónico objetivando su eficacia y seguridad (Hoebert M 2009). En base a la evidencia científica existente podemos afirmar que la melatonina constituye una opción terapéutica eficaz y bien tolerada para estos niños (Bendz LM 2010).

1.2.3.2 Melatonina en la anestesia pediátrica.

Los efectos sedantes, ansiolíticos, antiinflamatorios e hipnóticos de la melatonina apoyan el posible uso de ésta en las diferentes fases de los procedimientos anestésicos, desde la premedicación a la inducción anestésica así como en la analgesia postquirúrgica (Naguib M 2007).

Uno de los usos propuestos para la melatonina es como premedicación antes de la inducción anestésica. En un estudio randomizado, doble ciego realizado en niños se comparó la melatonina frente al midazolam en la premedicación anestésica, observando que ambos fármacos son igual de efectivos en aliviar la ansiedad. Sin embargo, la melatonina se asoció a una menor incidencia de excitación en el postoperatorio inmediato y a una menor incidencia de trastornos del sueño a las 2 semanas con respecto al midazolam (Samarkandi A 2005). Otros estudios no apoyarían estos resultados, objetivando que el midazolam es más efectivo que la melatonina en reducir la ansiedad en los niños (Kain ZN 2009), o incluso equiparando la melatonina al placebo con nula contribución a la sedación (Isik B 2008).

Numerosos estudios diagnósticos en el niño requieren para su realización sedación o anestesia general. Se ha estudiado la utilidad de la

melatonina como alternativa a la sedación convencional, para la realización de Resonancia Magnética en niños no colaboradores, observando que la melatonina, especialmente si se asocia a privación del sueño, mejora la tasa de éxito del procedimiento (Johnson K 2002). Asimismo también se ha mostrado eficaz para la realización de los potenciales evocados auditivos de tronco en el niño, permitiendo completar la exploración con éxito en la mayor parte de los casos y disminuyendo, sobre todo en los niños menores de 3 años de edad, la necesidad de anestesia para su realización (Schmidt CM 2007).

1.2.3.3 Melatonina en la epilepsia y crisis febriles.

El hecho de que la pinealectomía indujera crisis convulsivas en ratas paratiroidectomizadas (B. D. Reiter RJ 1973), así como las observaciones de los efectos epileptogénicos de los anticuerpos contra la melatonina inyectados en ratas (Fariello RG 1977), fueron los primeros datos que sugirieron una posible relación entre melatonina y epilepsia.

La mayoría de los datos experimentales indican que la melatonina posee propiedades anticonvulsivantes. En modelos animales, la melatonina puede inhibir las crisis eléctricas y audiogénicas así como reducir las convulsiones inducidas por pentetrazol, pilocarpina, L- cisteína y kainato (Banach M 2011). Se ha observado que en pacientes con crisis epilépticas de diversos orígenes existe un alteración en la secreción de la melatonina. La melatonina se encuentra disminuida en pacientes epilépticos en comparación con controles sanos y se eleva tras las crisis (Bazil CW 2000). En un estudio se midieron los niveles séricos de melatonina en 54 niños con una crisis convulsiva, febril y no febril, durante la misma, a la hora y a las 24 horas. Se vio que los niveles de melatonina aumentaban durante la crisis, normalizándose a la hora de la misma. Se cree que este aumento de la producción de melatonina podría ser una respuesta del organismo contra la crisis (M.-H. A.-F.-F.-M.-C. Molina-Carballo A 2007).

Estudios recientes, han objetivado niveles más bajos de melatonina en niños con epilepsia y crisis febriles complejas en comparación con niños sin crisis (Guo JF 2009) e igualmente niveles más bajos de melatonina en niños con epilepsia refractaria (Paprocka J 2010). Datos disponibles de estudios bioquímicos y electrofisiológicos apoyan la posibilidad de que los efectos anticonvulsivantes de la melatonina pueden depender de sus funciones antioxidantes y antiexcitotóxicas, como depurador de radicales libres y actuando sobre los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA) y del glutamato (Acuña-Castroviejo D 1995) (S.-F. M.-C.-M.-F.-C. Muñoz-Hoyos A 1998).

La mayoría de los estudios sobre la melatonina en el tratamiento de la epilepsia se han realizado en niños con epilepsia refractaria a las terapias convencionales, en los que se ha asociado el tratamiento con melatonina a otros fármacos antiepilépticos. Uno de los primeros casos descritos fue el de una niña con epilepsia mioclónica severa que presentaba crisis desde el mes de vida y deterioro neurológico severo, en la que se utilizó la melatonina como tratamiento adyuvante, con buena respuesta en el control de las crisis convulsivas (M.-H. A.-F.-M.-C.-F.-C. Molina-Carballo A 1997). Posteriormente otros estudios realizados en niños con epilepsia intratable han mostrado el beneficio del tratamiento con melatonina como adyuvante (Peled N 2001) (Saracz J 2004).

Existe, sin embargo, un estudio realizado en seis niños con epilepsia que recibieron tratamiento con melatonina (5 mg a la hora de acostarse) en el que se observó que, si bien la melatonina tenía un efecto positivo en el trastorno del sueño de estos pacientes, en cuatro de los seis niños aumentaron las crisis convulsivas (Sheldon SH 1998). Habría que considerar estos resultados con precaución ya que son pocos casos, con una muestra muy heterogénea (rango de edad de 9 meses a 18 años) a los que se les administró la misma dosis. En otro estudio se objetivó que la melatonina inducía alteraciones electroencefalográficas en pacientes con epilepsia temporal

(Sandyk R 1992). Esta hipótesis sobre los efectos proconvulsivantes de la melatonina no ha sido confirmada en mas estudios.

También se han demostrado las propiedades antiepileptógenas del ramelteon, un agonista selectivo del receptor de melatonina recientemente patentado, en un modelo de rata con epilepsia crónica (Fenoglio-Simeone K 2009). No se ha realizado ningún ensayo clínico de tratamiento en humanos.

1.2.4. DOSIFICACIÓN, SEGURIDAD Y POSIBLES EFECTOS ADVERSOS DE LA MELATONINA EN EL NIÑO.

Al no existir productos de liberación sostenida de melatonina para niños pequeños, pueden utilizarse los de liberación rápida (formulaciones intravenosas u orales). Estos productos sólo son eficaces durante 3-4 horas debido a la corta vida media de la melatonina que es menor a 1 hora. Por tanto la administración continua nocturna de 2-4 mg de melatonina vía intravenosa o a través de sonda nasogástrica podría ser ideal. De forma alternativa, se podría administra una dosis oral a la hora de dormir y repetirla a mitad de la noche. La dosis oral debería ser mayor por la pobre biodisponibilidad (DeMuro RL 2000). Sin embargo, este método de administración sería menos deseable ya que los niveles de melatonina no serían estables (W. M. Jan JE 2007).

La melatonina en los niños no se prescribe según el peso. Aunque existen estudios en los que se ha tratado con melatonina tanto a recién nacidos a término como pretérmino con dosis farmacológicas, sin aparentes efectos adversos, no se han llevado a cabo estudios de dosificación en los recién nacidos. Por lo tanto, se precisan más estudios para establecer la dosis terapéutica ideal en estos pacientes.

Tampoco ha sido estudiada la influencia de los suplementos de melatonina exógena en la secreción pineal de melatonina en los niños, aunque

es poco probable que interfiera ya que esto no ocurre en adultos cuando se administra melatonina exógena.

En general, existe consenso en que la terapia con melatonina a corto plazo es segura, incluso cuando los recién nacidos son tratados con dosis farmacológicas (R. R. Gitto E 2004) (K. M. Gitto E 2001) (Fulia F 2001) (R. C. Gitto E 2004). No se han publicado efectos adversos significativos con el tratamiento a largo plazo con melatonina en niños y en adultos, aunque estos estudios son escasos (Palm L 1997) (Siegrist C 2001).

1.3. SEPSIS NEONATAL

1.3.1. PROBLEMAS PARA LA DEFINICIÓN DE SEPSIS NEONATAL

La “Sospecha de Sepsis” constituye uno de los diagnósticos más frecuentes en la unidad neonatal. La sepsis neonatal es una patología grave, cuyo curso clínico puede ser rápido y dar como resultado la muerte del recién nacido o dejar secuelas significativas, constituyendo una importante causa de morbilidad y mortalidad, especialmente en el recién nacido pretérmino. Sin embargo, tanto la definición como el diagnóstico de la sepsis neonatal resultan difíciles ya que tanto los signos clínicos de sepsis como los hallazgos de laboratorio son muy inespecíficos, lo que hace que sean indistinguibles de otras patologías de etiología no infecciosa, que pueden a su vez simular una sepsis neonatal.

Los objetivos del neonatólogo deben ser: 1) Identificar precozmente los neonatos con alta probabilidad de sepsis e iniciar antibioterapia; 2) Diferenciar aquellos neonatos con alto riesgo de sepsis clínicamente asintomáticos o con signos clínicos pero que no precisan tratamiento; 3) Suspender el tratamiento antibiótico una vez que la sepsis parece poco probable (Polin RA 2012). La dificultad para el diagnóstico junto con la necesidad de instaurar un tratamiento precoz conlleva a que se traten un gran número de recién nacidos en los que nunca se llegará a confirmar la infección porque el hemocultivo será negativo, bien por un falso negativo (bajos niveles de bacteriemia, volúmenes escasos de sangre para el hemocultivo) o bien porque posiblemente no existiera una infección. En un estudio realizado en Estados Unidos solo el 2.2% de los recién nacidos que fueron evaluados por posible infección bacteriana cumplió finalmente criterios de infección posible, probable o probada (Escobar GJ 2000).

En la actualidad no existe un consenso internacional para definir la sepsis neonatal existiendo una gran disparidad en los criterios empleados para

su definición en diferentes estudios de investigación (Reyna-Figueroa J 2006) (Oeser C 2013).

En España, el Grupo de Hospitales Castrillo llegó, en 1995, a un consenso definiendo *Sepsis Confirmada* a aquella con hemocultivo positivo junto al menos un signo clínico de infección (distrés respiratorio, taquipnea, fiebre, taquicardia, apnea, cianosis, hipotermia, ictericia, hepatomegalia, anorexia, regurgitación, letargia, irritabilidad, vomitos, diarrea, temblores, contracciones musculares, petequias, púrpura y distensión abdominal) y al menos una alteración de laboratorio compatible con infección (PCR >12 mg/L, leucopenia <5.000/mm³, leucocitosis >15.000/mm³, ratio neutrófilos inmaduros leucocitos totales >0.2, ratio neutrófilos inmaduros neutrófilos totales >0.16). Asimismo definieron *Sepsis Clínica* como aquella con hemocultivo negativo en presencia de signos clínicos y analíticos de infección, *Bacteriemia Asintomática* como ausencia de datos clínicos y analíticos de infección con hemocultivo positivo y *Ausencia de Infección* en el caso de ausencia de signos clínicos o analíticos de infección y hemocultivo negativo (C. C. López Sastre JB 2000).

En el año 2002, en una conferencia de consenso internacional (San Antonio, Estados Unidos), con el auspicio del American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine, se adaptaron los criterios de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y sepsis a la edad pediátrica, teniendo en cuenta las peculiaridades fisiológicas de los niños. El documento final se publicó en el año 2005 y definía el SIRS con los mismos criterios clínicos y de laboratorio que en los adultos pero proporcionando valores de normalidad específicos para cada grupo de edad (Goldstein B 2005). Se cambiaron por tanto las variables clínicas utilizadas para definir SRIS en función de la edad y estableciendo 6 grupos de edad (Tabla 1.1). Este consenso excluye a los recién nacidos prematuros, dado que su atención tiene lugar en unidades de cuidados intensivos neonatales y la conferencia se discutió desde la perspectiva de unidades pediátricas.

Tabla 1.1. Grupos de edad pediátrica para definición de sepsis, signos vitales y variables de laboratorio por grupos de edad (se considera el p5 para los valores bajos de frecuencia cardíaca, recuento leucocitario y presión arterial sistólica, y p95 para valores elevados de frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria o recuento leucocitario). (Goldstein B 2005)

	Taquicardia (Latidos/minuto)	Bradicardia (Latidos/minuto)	Frecuencia respiratoria (respiraciones/minuto)	Recuento leucocitario (Leucocitos x 10 ³ /mm ³)	Tensión arterial sistólica (mmHg)
Recién Nacido (<1 semana)	>180	<110	>50	>34	<65
Neonato (1 semana-1 mes)	>180	<110	>40	>19,5 o <5	<75
"Infant" (lactante) (1 mes- 1 año)	>180	<90	>34	>17,5 o <5	<100
Preescolar (2- 6 años)	>140	No aplicable	>22	>15,5 o <6	<94
Escolar (6-12 años)	>130	No aplicable	>18	>13,5 o <4,5	<105
Adolescente y adulto joven (13-18 años)	>110	No aplicable	>14	>11 o <4,5	<117

Según este consenso podríamos definir la sepsis neonatal como un síndrome clínico (SIRS) en un niño menor o igual a 1 mes de vida, caracterizado por unos signos clínicos y analíticos de infección con o sin el aislamiento de una bacteria patógena en el hemocultivo (Tabla 1.2) (Goldstein B 2005). Este modelo de definición, que parece excelente para la edad pediátrica, tiene sin embargo muchas limitaciones en el neonato, tal como se objetivó en un estudio reciente (Z. E. Hofer N 2012). Asimismo, como se muestra en la tabla 1.3 se establecieron en este consenso los criterios para disfunción de órgano.

Tabla 1.2. Definiciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), infección, sepsis, sepsis severa y shock séptico. (Goldstein B 2005)

Definiciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), infección, sepsis, sepsis severa y shock séptico
<p>SRIS (a)</p> <p>Presencia de al menos dos de los siguientes cuatro criterios, de los cuales temperatura o recuento leucocitario deben ser anormales:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Temperatura central (b) > 38,5°C o < 36°C. - Taquicardia: frecuencia cardíaca > 2 DS para la edad, en ausencia de estímulos externos, drogas de uso crónico o estímulos dolorosos, o elevada persistencia inexplicada por más de 0,5 a 4 horas, o para niños < 1 año bradicardia: < p10 para la edad en ausencia de estímulos vágales, β bloqueantes o cardiopatía congénita u otra causa inexplicable por más de 0,5 horas. - Polipnea: frecuencia respiratoria > 2 DS para la edad o ventilación mecánica para un proceso agudo no vinculado a enfermedad neuromuscular o anestesia general. - Leucocitos elevados o disminuidos para la edad (no secundario a quimioterapia) o > 10 % de neutrófilos inmaduros.
<p>Infección</p> <p>Infección sospechada o probada (por cultivo positivo, muestra de tejido o test de reacción en cadena de polimerasa causada por cualquier patógeno o un síndrome clínico asociado a una elevada probabilidad de infección). Evidencia de infección incluye hallazgos positivos al examen clínico, estudios de imágenes, o test de laboratorio (glóbulos blancos en un fluido corporal normalmente estéril, radiografía de tórax consistente con neumonía, rash purpúrico o petequeial o púrpura fulminante).</p>
<p>Sepsis</p> <p>SRIS en presencia o como resultado de una infección sospechada o comprobada.</p>
<p>Sepsis severa</p> <p>Sepsis más uno de los siguientes: disfunción cardiovascular o SDRA o, dos o más disfunciones de órganos definida en la tabla 3.3.</p>
<p>Shock séptico</p> <p>Sepsis y disfunción cardiovascular definida en la tabla 3.3.</p>
<p>(a) Ver tabla 1.1. para variables fisiológicas y de laboratorio, de acuerdo a rangos de edad.</p> <p>(b) La temperatura central debe ser medida a nivel rectal, vesical, oral o por catéter central.</p> <p>En negrita las diferencias con las definiciones de adultos.</p>

Tabla 1.3. Criterios para disfunción de órgano. (Goldstein B 2005)

Criterios para disfunción de órgano.
<p>Disfunción cardiovascular (a)</p> <p>Después de la administración de bolo de fluido isotónico ≥ 40 ml/kg en una hora</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hipotensión $< p5$ para la edad o PA sistólica < 2 DS para la edad, <ul style="list-style-type: none"> o - Necesidad de drogas vasoactivas para mantener TA en rango normal (dopamina > 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ o dobutamina, adrenalina o noradrenalina a cualquier dosis), <ul style="list-style-type: none"> o - Dos de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> - Acidosis metabólica inexplicable: déficit de base $> 5,0$ mEq/l - Aumento del lactato arterial > 2 veces del valor normal - Oliguria: diuresis $< 0,5$ ml/kg/h - Relleno capilar > 5 seg - Diferencia de temperatura central/periférica $> 3^{\circ}\text{C}$
<p>Disfunción respiratoria (b)</p> <ul style="list-style-type: none"> - $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ en ausencia de enfermedad cardíaca cianótica o enfermedad pulmonar preexistente, <ul style="list-style-type: none"> o - $\text{PaCO}_2 > 65$ o 20 mm Hg mayor del valor basal de $p\text{CO}_2$, <ul style="list-style-type: none"> o - Aumento de requerimientos (c) de O_2 o más de 50% de FiO_2 para mantener $\text{SatO}_2 92\%$, <ul style="list-style-type: none"> o - Necesidad de ventilación mecánica invasiva o no invasiva (d).
<p>Disfunción neurológica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Score de coma de Glasgow < 11, <ul style="list-style-type: none"> o - Cambios agudos del estado de conciencia con disminución de ≥ 3 puntos de GCS basal.
<p>Disfunción hematológica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Plaquetas $< 80.000/\text{mm}^3$ o disminución del 50% del recuento plaquetario previo más alto en últimos tres días (para pacientes hemato/oncológicos crónicos), <ul style="list-style-type: none"> o - INR > 2.
<p>Disfunción renal</p> <ul style="list-style-type: none"> - Creatinina sérica \geq dos veces del límite normal para la edad o aumento al doble del valor basal.
<p>Disfunción hepática</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bilirrubina total ≥ 4 mg/dl (no aplicable a recién nacido), <ul style="list-style-type: none"> o - Alanina transaminasa dos veces mayor del límite normal para la edad.
<p>(a) Ver tabla 3.1; (b) síndrome de distrés respiratorio agudo puede incluir una $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$ mm Hg, infiltrados bilaterales, inicio agudo, y no evidencia de fallo cardíaco izquierdo. Injuria pulmonar aguda se define de la misma forma excepto que la $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ puede ser ≤ 300 mm Hg; (c) necesidad probada de O_2 asume requerimientos que son comprobados por la disminución del flujo y el subsiguiente aumento del flujo cuando son requeridos; (d) en el postoperatorio, los pacientes que requieren ventilación mecánica y que desarrollan una inflamación o infección aguda de los pulmones, lo que imposibilita su extubación, no deben ser incluidos.</p>

El 8 de Junio de 2010, tuvo lugar en Londres, una reunión de expertos sobre sepsis neonatal y pediátrica organizada por la *European Medicine Agency* (EMA). En esta reunión se intentaron establecer criterios para la realización de ensayos clínicos en neonatos y niños con sepsis, dada la ausencia de consenso existente hasta ese momento. Para la sepsis pediátrica se estableció la definición de la Conferencia de consenso Internacional sobre sepsis pediátrica (Goldstein B 2005), no así para la sepsis neonatal. Considerando la población neonatal hasta las 44 semanas de edad gestacional corregida, definieron la sepsis neonatal como la presencia de al menos dos síntomas clínicos y al menos dos signos de laboratorio en presencia o como resultado de una infección sospechada o probada (Tabla 1.4) (European Medicines Agency 2010).

Estos parámetros requieren todavía validación clínica, en la actualidad se están utilizando estos criterios en un gran ensayo clínico europeo (www.neomero.org) (Lutsar I 2011).

Por tanto, no existe en la actualidad ninguna definición o score de sepsis neonatal que haya sido validada, por ello la elección de la más adecuada a la hora de decidir unos criterios de inclusión para un estudio resulta especialmente difícil. Podemos afirmar que todavía queda mucho por hacer hasta llegar a una definición internacional de consenso para la sepsis neonatal.

Tabla 1.4. Signos clínicos y de laboratorio para el diagnóstico de sepsis neonatal. Deben cumplir al menos 2 signos clínicos y al menos 2 signos de laboratorio. (European Medicines Agency 2010).

Signos clínicos	Signos de laboratorio
<p>Alteración en la temperatura corporal:</p> <ul style="list-style-type: none"> - temperatura central mayor de 38,5 °C o menor de 36 °C Y/O - inestabilidad térmica <p>Inestabilidad cardiovascular:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bradicardia (media de FC menor del percentil 10 para la edad en ausencia de estímulos vagales externos, - Taquicardia (media de FC mayor de 2 DS de la media para la edad en ausencia de estímulos externos, drogas y estímulos dolorosos O ascenso persistente inexplicable de otra manera durante un periodo de 30 minutos a 4 horas) Y/O - inestabilidad del ritmo cardíaco - diuresis disminuida (menos de 1 mL/kg/h), - hipotensión (tensión arterial media por debajo del percentil 5 para la edad), - piel parcheada, - alteración de la perfusión periférica <p>Lesiones cutáneas y subcutáneas:</p> <ul style="list-style-type: none"> - exantema petequiral - esclerema <p>Inestabilidad respiratoria:</p> <ul style="list-style-type: none"> - episodios de apnea O - taquipnea (frecuencia respiratoria media por encima de 2 DS de la media para la edad) O - aumento de las necesidades de oxígeno O - necesidad de soporte respiratorio <p>Gastrointestinal:</p> <ul style="list-style-type: none"> - intolerancia alimentaria, - succión pobre - distensión abdominal <p>Signos inespecíficos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - irritabilidad, - letargia y - hipotonía 	<p>Recuento leucocitario</p> <ul style="list-style-type: none"> - <4000 x10⁹ células/L O - >20000 x10⁹ células/L <p>Índice infeccioso: neutrofilos inmaduros/n. totales (I/I)</p> <ul style="list-style-type: none"> - mayor de 0.2 <p>Recuento plaquetario</p> <ul style="list-style-type: none"> - <100.000 x10⁹ células/L <p>Proteína C reactiva > 15mg/L O procalcitonina ≥ 2¹ ng/ml.</p> <p>Alteraciones en la glucosa confirmadas al menos en 2 ocasiones</p> <ul style="list-style-type: none"> hiperglucemia (glucemia >180mg/dL o 10 mMol/L) O hipoglucemia (glucemia < 45 mg/dL o 2.5mMol/L) <p>recibiendo aportes de glucosa en rango normal para la edad</p> <p>Acidosis metabólica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Exceso de bases (EB) <-10 mEq/L O - Ácido láctico > 2mMol/L <p><small>¹ El punto de corte de la PCT no se encuentra bien establecido en neonatos.</small></p>

1.3.2. PATOGÉNESIS DE LA SEPSIS NEONATAL

En función de la edad del recién nacido al inicio de los síntomas podemos clasificar a la sepsis neonatal en sepsis precoz y sepsis tardía. No existe consenso unánime en cuanto a la definición de sepsis precoz, siendo aquella que se produce en la primera semana de vida, aunque algunos autores la limitan a las primeras 72 horas de vida. La sepsis tardía englobaría aquellas infecciones producidas entre la semana y los 28 días de vida. Algunos autores, como el Grupo de Hospitales Castrillo, prefieren clasificar a la sepsis en función del mecanismo de transmisión, diferenciando así dos tipos fundamentales de sepsis neonatal, las sepsis de transmisión vertical y las sepsis de transmisión nosocomial (C. C. López Sastre JB 2000) (C. C. López Sastre JB 2002).

La sepsis precoz se produce por transmisión vertical, bien vía ascendente produciendo una infección intra-amniótica o durante el parto por bacterias que colonizan o infectan el tracto genital materno. La sepsis tardía, aunque también puede producirse por transmisión vertical, suele deberse a patógenos adquiridos postnatalmente por transmisión horizontal (Camacho-Gonzalez A 2013), estando incluida en este grupo la sepsis nosocomial.

Antes del nacimiento, el feto se mantiene en un ambiente estéril. Los organismos que causan sepsis precoz como el estreptococo del grupo B colonizan el tracto genital materno y ascienden por el canal del parto produciendo una infección intra-amniótica. Comúnmente referida como corioamnionitis, la infección intra-amniótica implica infección del líquido amniótico, membranas, placenta y/o decidua. Generalmente se produce en el contexto de una ruptura de membranas pero también puede producirse con membranas íntegras y esto parece ser especialmente común para los mycoplasmas genitales como *Ureaplasma species* y *Mycoplasma hominis* que colonizan el tracto genital del 70% de las mujeres. De forma infrecuente la vía hematogena es la implicada en la corioamnionitis como ocurre con la *Listeria monocytogenes*. El diagnóstico de la corioamnionitis puede ser clínico

(presencia de los hallazgos clínicos típicos), microbiológico (cultivos de líquido amniótico o tejidos positivos) o histopatológico (evidencia microscópica de infección o inflamación en muestras de tejido). Los signos clínicos incluyen fiebre materna mayor o igual de 38°C, taquicardia materna (mayor de 100 latidos/minuto), taquicardia fetal (mayor de 160 latidos/minuto), dolor uterino y líquido amniótico maloliente. La corioamnionitis subclínica puede manifestarse como parto pretérmino o ruptura prematura de membranas (Tita AT 2010).

La corioamnionitis materna es el factor de riesgo más importante para la sepsis neonatal. La infección puede iniciarse intrauterino cuando el feto inhala o traga el líquido amniótico infectado. El recién nacido también puede desarrollar la sepsis en la horas o días tras el parto, cuando las barreras cutáneas o mucosas colonizadas se ven alteradas (Polin RA 2012).

La incidencia de coriomnionitis varía inversamente con la edad gestacional, complicando cerca del 40-70% de los partos prematuros con rotura prematura de membranas o parto espontáneo (Yoon BH 2001) (Romero R, Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes 1988). También afecta del 1 al 13% de los partos a término (Alexander JM 1999) (Seong HS 2008) (Blume HK 2008).

Los factores de riesgo para la sepsis neonatal incluyen factores maternos, del huésped recién nacido y virulencia del patógeno (Tabla 1.5) (Camacho-Gonzalez A 2013).

Tabla 1.5. Factores de riesgo para el desarrollo de sepsis neonatal.

Sepsis Precoz	Sepsis Tardía	Sepsis neonatal (Precoz y tardía)
Colonización materna por SGB	Ruptura de las barreras naturales (piel y mucosas)	Prematuridad:
Corioamnionitis	Uso prolongado de catéter permanente	- Disminución de paso de inmunoglobulina materna y anticuerpos
Rotura prematura de membranas	Procedimientos invasivos	- Inmadurez sistema inmune
Bolsa rota prolongada (>18 h)	Enterocolitis necrotizante	
Infección urinaria materna	Uso prolongado de antibióticos	
Embarazo múltiple	Uso de antagonistas H ₂ o inhibidores de la bomba de protones	
Parto pretérmino (<37 sem)		

1.3.3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA SEPSIS NEONATAL

1.3.3.1. Sepsis precoz de transmisión vertical

La epidemiología de la sepsis precoz esta siendo estudiada en nuestro país por el Grupo de Hospitales Castrillo desde el año 1996 incluyendo en la actualidad un registro de más de 800.000 recién nacidos. A lo largo de estos años se ha encontrado un descenso de la incidencia global pasando del 2.4 por cada 1000 recién nacidos vivos en el año 1996 al 0.34 por cada 1000 recién nacidos vivos en el año 2006 (F. C. López Sastre JB 2005). Las cifras son similares a las de otros países desarrollados como Estados Unidos en los que la incidencia global de la sepsis neonatal precoz se estima en 1 a 5 casos por cada 1000 recién nacidos vivos, siendo menor en recién nacidos a término, de 1 a 2 casos por cada 1000 recién nacidos vivos (H. N. Stoll BJ 2011, H. N. Stoll BJ 2011). La incidencia presenta variaciones significativas en función del peso al nacimiento, siendo más elevada en neonatos con peso inferior a 1500 g, que en los de peso superior (15,1‰ vs 0,84‰ en el año 2006 en el “Grupo de Hospitales Castrillo”). Por otro lado, aunque la tasa de infecciones en niños

mayores de 1500 g ha disminuido de forma significativa, en menores de 1500 g permanece estable (Figura 1.6) (Fernández Colomer B 2008).

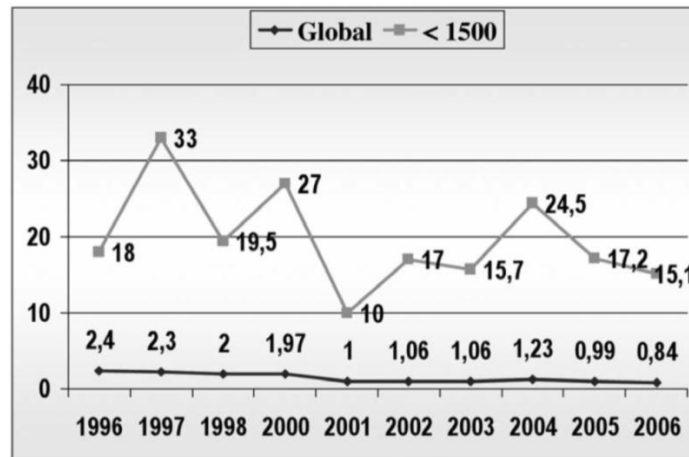


Figura 1.6. Incidencia evolutiva de la sepsis de transmisión vertical en el Grupo de Hospitales Castrillo 1996- 2006. Datos globales y en niños con peso <1500g (expresados por mil RN vivos). (Fernández Colomer B 2008)

La generalización de la profilaxis antibiótica intraparto para reducir la transmisión vertical del estreptococo del grupo B (EGB) en mujeres colonizadas ha supuesto un descenso significativo de la sepsis precoz por EGB y por tanto un descenso de la incidencia global de la sepsis neonatal precoz (Schrag SJ 2012) (Bizzarro MJ 2005) (F. C. López Sastre JB 2005).

A pesar de los esfuerzos para detectar a las mujeres colonizadas durante el embarazo e instaurar la profilaxis adecuada, no todos los casos de sepsis precoz por EGB son prevenidos y el EGB sigue siendo la primera causa de sepsis precoz en el recién nacido a término. La sepsis por E. Coli ha aumentado en los últimos años y afecta principalmente a recién nacidos prematuros por debajo de 2.500 g de peso al nacimiento, siendo la causa más común de sepsis precoz en este grupo. El E. Coli produce infecciones severas y meningitis y se ha convertido en la principal causa de mortalidad relacionada con sepsis en los recién nacidos pretérmino de muy bajo peso (24.5%) (Weston EJ 2011). Juntos, EGB y E. Coli representan aproximadamente el 70% de los

casos de sepsis precoz en el periodo neonatal (Bizzarro MJ 2005) (Vergnano S 2001) (F. C. López Sastre JB 2005).

1.3.3.2. Sepsis tardía de transmisión nosocomial

Los estudios del Grupo de Hospitales Castrillo sitúan en España la incidencia de sepsis de transmisión nosocomial en 2.1% de los ingresos en unidades neonatales (C. C. López Sastre JB 2002). La sepsis tardía es más frecuente en el recién nacido pretérmino, especialmente en el de bajo peso. Estudios del NICHD Neonatal Research Network, en Estados Unidos, muestran que aproximadamente el 21% de los recién nacidos pretérmino de peso menor a 1.500 g desarrollaran 1 o más episodios de sepsis tardía confirmada, con hemocultivo positivo, siendo esta incidencia inversamente proporcional a la edad gestacional (58% a las 22 semanas y 20% a las 28 semanas de edad gestacional) (H. N. Stoll BJ 2002) (H. N. Stoll BJ 2010).

La profilaxis antibiótica intraparto no disminuye la incidencia de sepsis tardía (Verani JR 2010). Los recién nacidos pretérmino de muy bajo peso constituyen un grupo de especial riesgo para la sepsis tardía debido a la hospitalización prolongada, uso de catéteres permanentes, tubos endotraqueales y otros procedimientos invasivos. Numerosos estudios han documentado tasas de sepsis tardía de 1.87 a 5.42, que disminuyen a medida que aumenta el peso al nacimiento (Vergnano S 2001) (H. N. Stoll BJ 2002). El estafilococo coagulasa-negativo (ECoN) constituye el patógeno aislado con mayor frecuencia en la sepsis tardía en los recién nacidos pretérmino de muy bajo peso.

1.3.4. AGENTES ETIOLÓGICOS EN LA SEPSIS NEONATAL

1.3.4.1. Sepsis precoz de transmisión vertical

La etiología es fundamentalmente bacteriana, pues la sepsis por hongos y virus suponen menos del 1% de los casos. Dentro de las bacterias, las más frecuentemente implicadas son *Streptococcus agalactiae* o estreptococo del grupo B (EGB) y *Escherichia coli* (*E. coli*). En relación con el peso al nacimiento, el EGB es más frecuente en niños de más de 1.500 g y *E. coli* en niños menores de 1.500 g. Otros gérmenes implicados son *E. faecalis*, otros *Streptococcus* y *Lysteria monocytogenes*, dentro de los Gram positivos y *klebsiella*, *H. influenzae* y *Enterobacter* dentro de los Gram negativos (Fernández Colomer B 2008).

La etiología ha sufrido variaciones en los últimos años en relación con la generalización de la profilaxis frente a la infección perinatal por estreptococo del grupo B (EGB). En los años 80 y 90 los gérmenes Gram positivos suponían el 75% de las infecciones verticales, habiendo descendido su implicación al 40-50% en la actualidad (F. C. López Sastre JB 2005) (H. N. Stoll BJ 2011). El EGB ha pasado en España, de una incidencia del 1.25‰ en 1996 al 1.24‰ en 2006 en la serie del “Grupo de Hospitales Castrillo” (F. C. López Sastre JB 2005).

1.3.4.2. Sepsis tardía de transmisión nosocomial

El aumento de la supervivencia de los recién nacidos pretérmino, especialmente en los de muy bajo peso, que precisan hospitalización prolongada y utilización de procedimientos invasivos y dispositivos, especialmente catéteres intravasculares, hace que estos pacientes se encuentren en un riesgo permanente de infección.

El “Grupo de Hospitales Castrillo” sitúa al Estafilococo coagulasa negativo (ECoN) como la primera causa de sepsis nosocomial, siendo el estafilococo epidermidis (*S. epidermidis*) el causante del 42% de los casos. Le siguen en frecuencia *Candida spp* (11.5%), *E. coli* (7.8%), *Enterococcus* (7.7%) y *Klebsiella* (7%). Los recién nacidos de peso ≥ 1.500 g presentan mayor frecuencia de sepsis por *E. coli* y *Enterobacter* y los < 1.500 g de *Candida spp*. (C. C. López Sastre JB 2002).

1.3.5. CLÍNICA DE LA SEPSIS NEONATAL

Las manifestaciones clínicas de la sepsis neonatal pueden ser muy variadas y son muy inespecíficas, siendo compatibles con otros procesos no infecciosos. Los signos clínicos de sepsis más frecuentes incluyen hipertermia o hipotermia, distrés respiratorio, apnea, cianosis, ictericia, hepatomegalia, distensión abdominal, trastornos de la alimentación y alteraciones neurológicas (Tabla 1.6). Los signos de sepsis precoz pueden ser muy sutiles y en el caso de los niños que debutan con un cuadro de distrés respiratorio presentarse como una taquipnea que sugiera un “pulmón húmedo”, o ser mas evidentes con quejido, aleteo nasal y tiraje. Debido a que la sintomatología es muy inespecífica y en ocasiones sutil puede pasarse por alto (Ferrieri P 2012).

Las sepsis nosocomiales suelen evolucionar de forma más solapada, especialmente las debidas a *S. epidermidis* y *Candida spp*, siendo a menudo difíciles de diagnosticar, por producirse coincidiendo con enfermedades subyacentes graves que requieren terapia intensiva y estando con frecuencia el neonato bajo tratamiento antibiótico.

Tabla 1.6. Signos clínicos de la sepsis neonatal

Mala regulación de la temperatura	Fiebre, hipotermia
Distrés respiratorio	Taquipnea, quejido, aleteo, tiraje, cianosis
Síntomas digestivos	Rechazo de tomas, vómitos, diarrea, distensión abdominal, hepatomegalia, ictericia
Síntomas neurológicos	Letargia, irritabilidad, hipotonía, hipertonía, temblores, convulsiones, fontanela tensa. Pausas de apnea
Signos cardiocirculatorios	Taquicardia, hipotensión, mala perfusión
Signos hematológicos	Petequias, púrpura, hemorragias Palidez

1.3.6. DIAGNÓSTICO DE LA SEPSIS NEONATAL

El diagnóstico precoz de la sepsis neonatal constituye un reto debido a que la clínica es muy inespecífica, y en ocasiones, sobre todo los recién nacidos prematuros, pueden permanecer inicialmente asintomáticos. Además los estudios diagnósticos complementarios son limitados y no siempre fiables. Por ello es difícil diferenciar la sepsis de otros procesos de etiología no infecciosa.

Un neonato con signos y síntomas de sepsis precisa una evaluación precoz e inicio de antibioterapia. Deben recogerse muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo (si lo permiten las condiciones clínicas) y orina (útiles a partir del 3º día de vida). La radiografía de tórax se realizara si existen síntomas respiratorios. Los estudios complementarios como el hemograma y la PCR no deben ser determinantes en la evaluación de la sepsis neonatal ya que pueden ser normales. Sin embargo, si se encuentran alterados, son útiles para apoyar el diagnóstico inicial y determinar la duración del tratamiento. Debe realizarse una historia clínica cuidadosa dirigida a identificar posibles factores de riesgo, así como una meticulosa exploración física (Camacho-Gonzalez A 2013).

1.3.6.1. Estudios complementarios

- Hemocultivo

El hemocultivo es el *gold standard* para el diagnóstico de la sepsis neonatal pero la tasa de positividad es baja y se ve influida por factores como la administración intraparto de antibióticos y las limitaciones en cuanto al volumen de sangre para hemocultivo que puede obtenerse en el neonato (Jawaheer G 1997) (Neal PR 1986). El número de unidades formadoras de colonias (UFC) es un factor muy importante. En aproximadamente el 25% de los neonatos con sepsis bacteriana el recuento de UFC de la bacteria en sangre es menor a 5 UFC/ml (Dietzman DE 1974). Ello hace que el volumen de sangre que se precisa para detectar bacteriemia sea crítico. Idealmente, debería obtenerse al menos 1 ml de sangre para hemocultivo lo que aumenta mucho la rentabilidad del hemocultivo (C. M. Schelonka RL 1996). Sin embargo, esto no siempre es posible, sobre todo en recién nacidos de muy bajo peso. En estas circunstancias, la extracción de sangre a través de un catéter arterial permanente sería una alternativa aceptable (Cowett RM 1976), al igual que el hemocultivo recogido de sangre de cordón umbilical al nacimiento (Polin JI 1981).

Con la tecnología de la que disponemos en la actualidad, la mayoría de los hemocultivos positivos pueden detectarse en las primeras 24 a 48 horas (García-Prats JA 2000). Esto tiene especial utilidad en el recién nacido a término asintomático en el momento del inicio de la antibioterapia. En este caso parece razonable suspender el tratamiento si el hemocultivo es negativo a las 48 horas y el paciente persiste asintomático, siempre teniendo en cuenta además otras pruebas de laboratorio. En el recién nacido pretérmino asintomático, esto no resulta de tanta utilidad debido a que, clínicamente, es mucho más difícil de evaluar. En cualquier caso, si la sospecha de sepsis es elevada, especialmente si existen síntomas, debe considerarse completar un

curso completo de tratamiento, independientemente de la negatividad del hemocultivo (Ferrieri P 2012).

- Urocultivo

La frecuencia de urocultivos positivos en neonatos con sepsis precoz es muy baja y este no debe formar parte del diagnóstico en estos pacientes. Sin embargo, en el neonato de mayor edad si constituye una parte importante del estudio diagnóstico de sepsis (Visser VE 1979).

- Análisis de LCR

La realización de una punción lumbar para análisis de LCR en el recién nacido con sepsis precoz resulta controvertida. En el neonato a término con factores de riesgo de infección pero clínicamente asintomático, con buen estado general el riesgo de meningitis es extremadamente bajo (Johnson CE 1997). En el recién nacido con signos clínicos atribuibles a un origen no infeccioso, como por ejemplo síndrome de distrés respiratorio, el riesgo de meningitis es también bajo (Eldadah M 1987). Sin embargo, en presencia de bacteriemia, la incidencia de meningitis puede llegar hasta el 23% (Isaacs D 1995) (May M 2005). El hemocultivo de forma aislada tampoco puede ser utilizado para decidir que pacientes precisan la realización de punción lumbar, ya que el hemocultivo puede ser negativo hasta en el 38% de los neonatos con meningitis (H. N. Stoll BJ 2004) (Garges HP 2006).

La punción lumbar debe ser realizada en cualquier recién nacido con hemocultivo positivo, en aquellos en los que el curso clínico o los datos de laboratorio sugieran fuertemente el diagnóstico de sepsis bacteriana y en aquellos que empeoran tras el inicio de la terapia antibiotica. En caso de inestabilidad hemodinámica o respiratoria en un recién nacido críticamente enfermo, la punción lumbar debe ser diferida (Polin RA 2012).

- Recuento leucocitario

Al contrario de lo que sucede en niños mayores o en adultos, el recuento leucocitario no constituye un buen predictor de infección en el neonato (R. G. Christensen RD 1985). Además los valores considerados normales, de los diferentes parámetros dentro de los leucocitos, van variando desde el nacimiento a lo largo de los primeros días de vida en función de la edad gestacional, tipo de parto, lugar de extracción (arterial o venosa) o altitud, lo que hace más difícil su interpretación. Numerosos estudios han intentado establecer unos valores de referencia (Manroe BL 1979) (Schmutz N 2008) (Mouzinho A 1994) (Y. B. Schelonka RL 1994) (R. G. Christensen RD 1979) (Lambert RM 2009).

La cifra de neutrófilos totales, neutrófilos inmaduros y el cociente de neutrófilos inmaduros entre neutrófilos totales (Índice Infeccioso, II) constituyen parámetros de mayor utilidad para el diagnóstico de sepsis neonatal. Un estudio multicéntrico reciente ha mostrado que la leucopenia y la neutropenia, así como un Índice Infeccioso elevado (cociente neutrófilos inmaduros entre neutrófilos totales) se asocian con mayor riesgo de infección (odds ratios 5.38, 6.84 y 7.90, respectivamente), sin embargo la sensibilidad para el diagnóstico de sepsis es baja (Hornik CP 2012). Ensayos que realizan estudios seriados han mostrado mejores resultados, Murphy and Weiner, han objetivado que dos determinaciones de Índice Infeccioso normal junto con un hemocultivo negativo en las primeras 24 horas de vida, poseen un valor predictivo negativo (VPN) para sepsis neonatal del 100%, pero la especificidad y el valor predictivo positivo (VPP) son del 51% y 8.8%, respectivamente (Murphy K 2012).

El recuento leucocitario debe interpretarse con cautela y en conjunto con otros estudios de laboratorio.

- Recuento plaquetario

A pesar de la frecuencia de trombopenia en neonatos infectados, constituye un marcador tardío, poco específico y con baja sensibilidad (Manzoni P 2009) (Guida JD 2003). Además el recuento plaquetario no es útil para evaluar la respuesta al tratamiento ya que frecuentemente permanece bajo tras días o semanas del episodio de sepsis.

- Proteína C reactiva (PCR)

Se han evaluado multitud de reactantes de fase aguda en neonatos con sepsis. Sin embargo, solo la PCR y la Procalcitonina (PCT) se han investigado suficientemente en numerosos estudios. La PCR fue descrita por primera vez en 1930 y desde entonces multitud de estudios han mostrado la elevación de PCR en procesos infecciosos y no infecciosos que poseen en común un mecanismo inflamatorio o de injuria tisular (Tillett WS 1930).

La sensibilidad de la PCR es baja al nacimiento porque requiere el inicio de la respuesta inflamatoria, y aumenta de forma significativa si la primera determinación se realiza a las 6-12 horas de vida. Las determinaciones seriadas de PCR en las primeras 48 horas del episodio aumentan de forma considerable la sensibilidad, de forma que al menos 2 valores de PCR normales ($PCR \leq 10$ mg/L) en un intervalo de 24 horas poseen un valor predictivo negativo del 99% para la sepsis neonatal (Hengst JM 2003) (H. M. Benitz WE 1998). Esto sería de especial utilidad en el caso de neonatos asintomáticos a los que se les pautó antibioterapia, ya que con PCR persistentemente normal, existe una fuerte evidencia de que la sepsis es muy poco probable y el tratamiento antibiotico podría ser suspendido.

Por el contrario, niveles elevados de PCR serían más difíciles de interpretar, especialmente para el diagnóstico de sepsis precoz, debido a que factores como la rotura prematura de membranas, fiebre materna, preeclampsia, uso de

corticoides prenatales y distrés respiratorio inmediato pueden producir un aumento de PCR (S. F. Chiesa C 2001). La edad gestacional también influye en la cinética de la PCR, debido a que los recién nacidos pretérmino poseen una respuesta más baja y más corta en comparación con recién nacidos a término sanos (N. F. Chiesa C 2011) (Hofer N 2011). Los estudios sugieren que debemos utilizar la PCR como parte del estudio diagnóstico para ayudar a determinar los recién nacidos con infección, y no como un estudio aislado.

- Procalcitonina (PCT)

La liberación de PCT por los tejidos aumenta en presencia de infección lo que la convierte en un marcador de sepsis neonatal. La PCT se diferencia de la PCR en que se eleva de forma más rápida en respuesta a la infección, por lo que podría ser de mayor utilidad en la detección de sepsis neonatal. Los neonatos reaccionan al nacimiento con una activación no específica del sistema inmunitario. Esto conduce a la inducción de una serie de marcadores y mediadores inflamatorios, incluida la PCT pero también la interleucina-6 y la PCR. Por tanto, en el recién nacido se produce una elevación fisiológica de la PCT en las primeras 24 horas de vida (rango de 0.1 a 20 ng/ml) para después descender de forma progresiva a los valores normales a las 48-72 horas de vida (Stocker M 2010) . También se puede producir un aumento en presencia de algunos procesos no infecciosos como por ejemplo el distrés respiratorio inmediato (Lapillonne A 1998). Ello dificulta su interpretación en el recién nacido y aunque posee una sensibilidad algo mayor que la PCR es menos específica (Benitz WE 2010). Chiesa et al. y Turner et al. crearon para neonatos con sepsis, el primero para recién nacido a término y el segundo para el pretérmino, un rango de referencia adaptado al transcurso del tiempo en comparación con un grupo control sin sepsis (N. F. Chiesa C 2011) (Turner D 2006).

Un estudio multicéntrico prospectivo reciente desarrollado por Auriti y colaboradores, mostró una elevación significativa de la PCT en recién nacidos

con sepsis con respecto a recién nacidos sanos (3.58 vs 0.49 ng/ml; $P < 0.001$). Además, el punto de corte de PCT de 2.4 ng/ml fue sugerido como el más preciso para el diagnóstico de sepsis neonatal con independencia de la edad gestacional, con una sensibilidad del 62% y una especificidad del 84% (Auriti C 2012). Un metaanálisis de 16 estudios (1959 neonatos), mostro que la PCT posee una sensibilidad y especificidad del 81% y 79%, respectivamente (Vouloumanou EK 2011). Aunque son resultados prometedores, se requieren más estudios para aclarar el uso de la PCT en la práctica clínica.

- Otras pruebas

De incorporación más reciente para el diagnóstico de infección, con elevada sensibilidad y especificidad, se encuentran entre otras, las interleucinas, entre ellas la interleucina 6 y la 8 y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*). Mediante la reacción en cadena de la polimerasa se amplifica el DNA de un determinado patógeno, permitiendo establecer un diagnóstico etiológico de forma rápida y precisa. Existe evidencia considerable de que la interleucina-6, la interleucina-8 y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son mejores marcadores de infección que el recuento total de leucocitos, la proteína C reactiva o la procalcitonina (Jordan JA 2000) (Buck C 1994) (Martin H 2001). Sin embargo, no suelen encontrarse disponibles en la mayoría de los centros. De ser así, la combinación de la Proteína C reactiva (>10 mg/L) con interleucina-6 o interleucina 8 (>70 pg/ml), nos daría un valor predictivo negativo del 98%, con lo que podría excluirse infección con bastante seguridad (Haque KN 2005).

En la tabla 1.7 se resumen la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de algunos de los test de laboratorio utilizados en el diagnóstico de la sepsis neonatal (Haque KN 2005).

Tabla 1.7. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de algunas pruebas de laboratorio utilizadas para el diagnóstico de la sepsis neonatal. (Haque KN 2005)

Prueba	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Hemocultivo	11-38	68-100	90-100	72-100
Recuento leucocitario (<5.000 >30.000)	17-90	31-100	50-86	60-89
II (>0.02)	81	45	23	92
PCR (>10 mg/L)	37	95	63	87
IL-8 (>70 pg/ml)	77	76	42	94
II (>0.02) + PCR (>10 mg/L)	89	41	24	94
IL-8 (>70 pg/ml) + PCR (>10 mg/L)	91	74	43	98
PCR* (DNA)	96	99.4	88.9	99.8

VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; II: índice infeccioso, cociente neutrófilos inmaduros/totales; PCR: proteína C reactiva; PCT: procalcitonina; IL: interleuquina; PCR*: reacción en cadena de la polimerasa.

Todos los valores se expresan en porcentajes.

1.3.7. TRATAMIENTO DE LA SEPSIS NEONATAL

1.3.7.1. Sepsis precoz de transmisión vertical

El tratamiento debe iniciarse precozmente ante la sospecha de sepsis. La terapia empírica generalmente consiste en combinaciones de antibióticos efectivos frente a patógenos Gram positivos y Gram negativos. Existe consenso en utilizar de forma empírica ampicilina junto con un aminoglucósido, generalmente gentamicina, cuyo espectro cubre los principales patógenos implicados en estas infecciones (C. C. López Sastre JB 2000). Ante la sospecha de meningitis se iniciará tratamiento con ampicilina y cefotaxima. Si existe confirmación con el hemocultivo, el tratamiento se basará en el antibiograma.

Cualquier decisión de suspender el tratamiento deberá basarse en el nivel de sospecha de sepsis en el momento del inicio del tratamiento, el resultado de los cultivos y de las pruebas de laboratorio y en el comportamiento y curso clínico del recién nacido. Si existe una alta sospecha de sepsis, se debería cumplir un curso completo de antibióticos, incluso en presencia de cultivos negativos. Cuando la probabilidad de infección sea muy baja debería suspenderse el tratamiento. En algunos centros que disponen de alta tecnología, puede obtenerse el resultado del hemocultivo en 48 horas permitiendo suspender la antibioterapia de forma precoz (García-Prats JA 2000). Los neonatos con hemocultivo positivo, sin meningitis, suelen ser tratados durante 7 a 10 días (Ferrieri P 2012).

1.3.7.2. Sepsis tardía de transmisión nosocomial

A diferencia de la sepsis vertical, no existe un tratamiento antibiótico empírico consensuado para la sepsis nosocomial y los regímenes de antibioterapia difieren mucho entre hospitales. Debe considerarse la cobertura de *Pseudomona* u otros gram negativos resistentes en pacientes con rápido deterioro clínico, siendo una combinación habitual la de una cefalosporina con cobertura frente a *pseudomona* (ceftazidima) junto con un aminoglucósido (amikacina). Habrá que considerar en neonatos portadores de catéteres el tratamiento con vancomicina o teicoplanina para cubrir al *Estafilococo* coagulasa negativo (ECoN).

Debe tenerse en cuenta la flora de cada Unidad Neonatal, siendo también muy importante suspender el tratamiento en casos de sepsis no confirmada y en caso de cultivo positivo la antibioterapia debe basarse en el antibiograma. Debe limitarse en la medida de lo posible el uso de antibióticos de amplio espectro para evitar complicaciones como resistencias bacterianas o infecciones fúngicas (Munson DA 2012).

1.4. LA MELATONINA EN LA SEPSIS

1.4.1. ESTRÉS OXIDATIVO Y SEPSIS NEONATAL

Como he comentado anteriormente, el recién nacido y en especial el recién nacido pretérmino son extremadamente susceptibles al estrés oxidativo (R. R. Gitto E 2002). Entre las diferentes razones que llevan a ello se encuentra la mayor probabilidad de padecer infecciones por un sistema de defensa todavía inmaduro. La sepsis supone un serio problema en el recién nacido.

En la sepsis se producen una serie de acontecimientos concatenados cuyo evento iniciador es la liberación de endotoxinas bacterianas, como por ejemplo los lipopolisacáridos (LPS) de la pared celular de patógenos Gram positivos y negativos (P. S. Gitto E 2009). Los LPS desencadenan la activación de células inflamatorias, incluyendo los leucocitos polimorfonucleares (PMN), monocitos /macrófagos y linfocitos. Los LPS también inician otros aspectos de la respuesta inflamatoria inmune, tanto humoral como celular. La respuesta inflamatoria que ocurre como consecuencia de una infección es el determinante principal de las consecuencias de la sepsis (Abraham E 2007). Una de las principales características de la sepsis es la infiltración de los tejidos por células fagocíticas. Cuando esto ocurre, los PMN y los monocitos/macrófagos responden a esta estimulación produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS, por *reactive oxygen species*) y especies reactivas de nitrógeno (RNS, por *reactive nitrogen species*). Además, los PMN liberan enzimas (elastasa, catepsina, etc.) y ácido hipocloroso (HClO). El HClO es un oxidante derivado del cloro y del peróxido de hidrógeno, formado por la enzima mieloperoxidasa (MPO). Es uno de los más poderosos oxidantes y el radical libre más dañino producido por los neutrófilos con una potente acción bactericida. Todo ello contribuye a la defensa contra los patógenos, sin embargo, si se producen en exceso, los ROS/RNS junto con las enzimas proteolíticas producen disfunción microvascular y daño de los diferentes órganos. Es crucial que exista un equilibrio en la respuesta inflamatoria al estímulo séptico, entre los mediadores

pro y anti-inflamatorios y oxidantes y antioxidantes, para la correcta defensa del huésped.

Numerosos estudios clínicos demuestran la implicación de los ROS y RNS en la sepsis neonatal y sus complicaciones. Batra y colaboradores sugirieron el aumento de especies reactivas de oxígeno en neonatos sépticos dado el aumento de enzimas oxidantes en estos pacientes, que por el contrario, tenían disminuida la actividad de enzimas antioxidantes (Batra S 2000). Igualmente, Seema et al. demostraron que los neonatos con sepsis presentaban niveles significativamente más elevados de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y mayor actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) (Seema 1999). Kurt et al. objetivaron que los mediadores inflamatorios interleuquina 1 β (IL-1 β), interleuquina 6 (IL-6), interleuquina 8 (IL-8) y TNF- α podían ser utilizados en el diagnóstico y evaluación de la respuesta al tratamiento de la sepsis neonatal (Kurt AN 2007).

1.4.2. MELATONINA Y SEPSIS

1.4.2.1. Melatonina y sepsis en el adulto

En el adulto numerosos estudios han medido los niveles de melatonina en pacientes críticos ingresados en unidades de cuidados intensivos. Se ha objetivado que en adultos sépticos ingresados en cuidados intensivos existe una disrupción en el ritmo circadiano de melatonina que por el contrario se encontraba preservado en aquellos pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI) pero no sépticos (Mundigler G 2002).

En otro estudio realizado en 8 pacientes críticos sedados y conectados a ventilación mecánica se objetivó una pérdida del ritmo circadiano de secreción

de melatonina en todos salvo en un paciente que se recuperó más rápidamente (Olofsson K 2004).

Marcadores bioquímicos del ritmo circadiano de secreción de melatonina fueron estudiados en 16 pacientes ingresados en la UCI de dos hospitales regionales suecos. Se objetivó una disminución de la excreción total de 6-sulfatoximelatonina en orina, principal metabolito de la melatonina, en comparación con los valores de referencia de poblaciones sanas. La ventilación mecánica se asoció con un marcado descenso de esta excreción, mientras que la infusión de drogas adrenérgicas incremento la excreción de 6-sulfatoximelatonina de forma significativa. Cinco pacientes (31%) mostraron una excreción ausente durante un periodo de 24 horas o más. Los ritmos diurnos fueron alterados de forma constante o periodica en el 65% y 75% de los pacientes, respectivamente (Frisk U 2004).

Perras y colaboradores midieron los niveles séricos de melatonina a las 2:00 AM en 302 pacientes, en la primera noche de ingreso en UCI. Se intentó establecer una correlación entre la severidad de la enfermedad (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score and Therapeutic Intervention Scoring System*) y los niveles de melatonina. Analizando todo el grupo de pacientes no existía o era muy débil la correlación entre los niveles nocturnos de melatonina y la severidad de la enfermedad. Por el contrario, el análisis por subgrupos objetivó que, en los 14 pacientes con sepsis severa, existía una correlación negativa entre la severidad de la enfermedad y los niveles nocturnos de melatonina. No existía esta correlación en pacientes admitidos con otras patologías como síndrome coronario, intoxicación, hemorragia digestiva, neumonía o accidente cerebrovascular (K. V. Perras B 2006).

Estos autores también evaluaron si la respuesta fisiológica de la glándula pineal a la luz y oscuridad se encontraba preservada en enfermos

críticos objetivando que esta respuesta se encontraba abolida (M. M. Perras B 2007).

Las alteraciones del ritmo sueño-vigilia, el aumento del estrés oxidativo y una respuesta inflamatoria alterada objetivada en pacientes con shock séptico hacen de ellos un grupo que se podría beneficiar especialmente de la terapia con melatonina (M. G. Bourne RS 2006). Mistraretti y colaboradores estudiaron la farmacocinética de la melatonina administrada vía oral a pacientes críticos, mostrando que existía una buena biodisponibilidad (Mistraretti G 2010).

En este sentido, para evaluar el efecto del tratamiento con melatonina, en pacientes críticos sometidos a ventilación mecánica, se realizó un ensayo clínico randomizado, doble ciego, en 24 pacientes. Se administró melatonina (10 mg vía oral) o placebo a las 9:00 PM durante 4 noches. El tratamiento con melatonina se asoció con un aumento del sueño nocturno en 1 hora. Basandose en los niveles suprafisiológicos de melatonina detectados en plasma al final de la noche, los autores concluyen, que probablemente una dosis baja de melatonina (1-2 mg) sería suficiente para para mejorar el sueño. Sin embargo, se necesitarían dosis mayores de melatonina para lograr un efecto en la reducción del daño de la reperfusión isquémica, prevención del fracaso multiorgánico o tratamiento de la sepsis (M. G. Bourne RS 2008).

1.4.2.2. Melatonina y sepsis en en el niño

No son muchos los artículos en relación a la sepsis y la melatonina en el niño, siendo el grupo de Gitto y colaboradores, de la Universidad de Mesina en Italia, los pioneros en este sentido. Ellos estudiaron el efecto del tratamiento con melatonina en neonatos sépticos objetivando una reducción del estrés oxidativo. Determinaron los cambios en el estado clínico y en los niveles séricos de los productos de la peroxidación lipídica (malondialdehído y 4-hidroxiakenals) en 10 neonatos sépticos tratados con melatonina administrada

en las primeras 12 horas tras el diagnóstico. Otros 10 neonatos con sepsis fueron utilizados como controles sépticos y 10 neonatos sanos como controles sanos. Los productos de la peroxidación lipídica estaban significativamente más elevados en recién nacidos con sepsis con respecto a los recién nacidos sanos. En los neonatos sépticos que fueron tratados con melatonina se objetivó una reducción significativa tanto de malondialdehído como de 4-hidroxiálkenals. La melatonina también mejoró el curso clínico observando un descenso de los leucocitos totales, neutrófilos totales y proteína C reactiva a las 24 horas de la administración que se mantenía a las 48 horas (K. M. Gitto E 2001).

Se han medido los niveles de melatonina en niños ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos (UCIP) en varios estudios. En uno de ellos se midieron los niveles nocturnos de melatonina sérica y la excreción urinaria de 6- sulfatoximelatonina en 23 niños con sepsis severa ingresados en la UCIP. Los pacientes con shock séptico tenían niveles de melatonina más elevados que aquellos sépticos sin shock o no sépticos. Por el contrario, no se encontraron diferencias en la excreción nocturna y total de 6-sulfatoximelatonina entre los pacientes sépticos con o sin shock y los pacientes sin sepsis. Los niveles de melatonina sérica fueron significativamente más elevados en los niños con shock séptico con o sin disfunción hepática con respecto a los no sépticos. La excreción de 6 sulfatoximelatonina fue sin embargo menor en los pacientes sépticos con disfunción hepática en comparación con los sépticos sin disfunción. Estos resultados sugieren que unos niveles elevados de melatonina en niños con shock séptico podrían deberse no solo al aumento de su producción sino también a la disminución de su metabolismo en el hígado (Y. D. Bagci S 2011).

Otro estudio realizado por este mismo grupo, midiendo las mismas variables, en 20 pacientes sépticos y 20 pacientes no sépticos ingresados en la UCIP, objetivó que no existían diferencias en los niveles de melatonina nocturna entre los pacientes con y sin sepsis. Pero analizando el subgrupo de

pacientes sépticos que no sobrevivieron encontraron que los niveles de melatonina eran significativamente mayores que en los supervivientes, siendo por el contrario los niveles de 6- sulfatoximelatonina menores en los fallecidos. También objetivaron que los niveles de melatonina en los pacientes con shock séptico eran significativamente más elevados que en los pacientes sépticos pero sin shock. No encontraron efecto de la ventilación mecánica o la sedación sobre los niveles de melatonina (H. Ö. Bagci S 2012). Estos resultados sugieren, que al contrario que los resultados observados en adultos, los niveles de melatonina nocturna no se encuentran disminuidos en los niños con sepsis ingresados en la UCIP.

Un estudio del grupo de Gitto mostró resultados similares. Se evaluaron los niveles de melatonina en 16 niños ingresados en la UCIP sedados y conectados a ventilación mecánica, además se randomizaron en dos grupos, uno expuesto y otro no expuesto a la luz para evaluar el efecto de la luz en la secreción de melatonina. Se objetivó que existía una severa disrupción en el ritmo circadiano de melatonina. La exposición a la luz disminuyó los niveles de melatonina incluso en el contexto de esta alteración del ritmo circadiano. Los picos de melatonina fueron mayores en comparación con niños sanos emparejados por edad (Marseglia L 2013).

Se necesitarían futuros estudios que permitieran determinar si el tratamiento con melatonina podría ser beneficioso para los niños ingresados en UCIP con enfermedades graves como sepsis o shock séptico.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICACIÓN

La sepsis representa un serio problema en el recién nacido, especialmente en el recién nacido pretérmino con una incidencia global para la sepsis precoz en nuestro medio de 0.34 por cada 1000 recién nacidos vivos en el año 2006 (F. C. López Sastre JB 2005), siendo más elevada en neonatos con peso inferior a 1500 g que en los de peso superior (15,1‰ vs 0,84‰ en el año 2006 en el “Grupo de Hospitales Castrillo”). Por otro lado, aunque la tasa de infecciones en niños mayores de 1500 g ha disminuido de forma significativa, en menores de 1500 g permanece estable. La incidencia de sepsis de transmisión nosocomial se sitúa en España en 2.1% de los ingresos en unidades neonatales (C. C. López Sastre JB 2002). La sepsis neonatal constituye una importante causa de morbilidad y mortalidad, especialmente en el recién nacido pretérmino.

Por otro lado, el recién nacido y en especial el recién nacido pretérmino son extremadamente susceptibles al estrés oxidativo (R. R. Gitto E 2002). Ello se debe a que son expuestos a elevadas concentraciones de oxígeno, presentan infecciones e inflamación, tienen disminuidos los mecanismos de defensa antioxidante y poseen elevadas cantidades de hierro libre que se requiere para la reacción de Fenton que conlleva a la producción del altamente tóxico radical hidróxilo. El estrés oxidativo claramente contribuye a la severidad de numerosas patologías que afectan al recién nacido, y en especial al recién nacido pretérmino. Existen numerosos estudios que sugieren que las especies reactivas de oxígeno (ROS, por reactive oxygen species) juegan un papel importante en la patogénesis de la sepsis neonatal y sus complicaciones (Seema 1999) (Batra S 2000).

La melatonina, secretada principalmente en la glándula pineal, es una hormona que como hemos visto en la revisión efectuada posee numerosas

funciones, entre las que destaca su capacidad antioxidante, tanto de forma directa depurando ROS, como indirectamente estimulando la actividad de enzimas antioxidantes. Por otro lado numerosos estudios han demostrado sus propiedades inmunomoduladoras y antiinflamatorias.

En los últimos años se han publicado algunos estudios que han analizado los niveles de melatonina en el recién nacido a término. Por otro lado, el equipo de Gitto ha estudiado los efectos del tratamiento con melatonina en el recién nacido séptico. En adultos, y en menor número en niños, también se han publicado algunos estudios que analizan los niveles de melatonina en condiciones de enfermedad grave o de sepsis. Pero hasta el momento, no existe ningún estudio publicado que analice el comportamiento de la secreción de melatonina en el recién nacido con sepsis, tanto a término como pretérmino.

Considerando el papel inmunomodulador y antioxidante de la melatonina, posibles alteraciones en su secreción en el contexto de una sepsis podrían ser especialmente perjudiciales en estos pacientes. Por ello este trabajo pretende ayudar a estudiar la secreción de melatonina en los recién nacidos con sepsis.

2.2 OBJETIVOS

La revisión anteriormente expuesta constituye la base para establecer los objetivos de esta tesis doctoral:

- Objetivo principal:
 - Describir y analizar la secreción de melatonina de forma evolutiva durante la sepsis neonatal, tanto en el recién nacido a término como en el recién nacido pretérmino.

- Objetivos secundarios:
 - Analizar si los niveles de melatonina serían útiles como factor predictor de sepsis neonatal.
 - Determinar si existe relación entre los niveles de melatonina y la gravedad de la sepsis neonatal.
 - Estudiar si los niveles de melatonina podrían tener un valor pronóstico en la sepsis neonatal.
 - Establecer si existe relación entre la melatonina y la FiO_2 .
 - Valorar si existe relación entre los niveles de melatonina y otras variables analíticas.
 - Comprobar si existe relación entre los niveles de melatonina y determinados reactantes de fase aguda (PCR, PCT).

3. PACIENTES Y MÉTODOS

3. PACIENTES Y MÉTODOS

3.1 PACIENTES

Este estudio prospectivo fue desarrollado en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Sanitas La Moraleja, un hospital de carácter terciario situado en la ciudad de Madrid. Se trata de una Unidad Neonatal de tipo IIIb (Rite Gracia S 2013). Fueron incluidos en el estudio aquellos recién nacidos con sepsis ingresados en la unidad entre Octubre de 2011 y Mayo de 2013 que cumplían los criterios de inclusión que se exponen posteriormente.

En cumplimiento con los acuerdos de Helsinki, antes de incluir a un paciente en el estudio se informó a los padres sobre la finalidad del estudio y los procedimientos a realizar. Se entregó un consentimiento informado (Se adjunta en apartado de ANEXOS) y únicamente fueron incluidos aquellos pacientes cuyos padres consintieron el estudio.

Los *Criterios de Inclusión* en el Estudio fueron los siguientes:

- Recién nacidos de edad menor o igual a 28 días de vida, tanto a término como pretérmino
- Con “sospecha de sepsis”
- Cuyos padres autorizan el estudio

Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes con “*Sospecha de Sepsis*”. Esta valoración fue realizada por un pediatra neonatólogo experimentado que consideró que el paciente presentaba criterios clínicos de sepsis con independencia de si presentaba o no alteraciones analíticas. A todos los pacientes se les inició, por tanto, antibioterapia empírica.

Tras la inclusión en el estudio y una vez confirmados los resultados de los cultivos, se clasificó a los pacientes en 3 grupos diferentes:

1. *Pacientes con Sepsis Confirmada:*

Aquellos pacientes con hemocultivo positivo que cumplían al menos dos criterios clínicos y dos criterios analíticos de sepsis neonatal según la definición de sepsis neonatal expuesta posteriormente.

2. *Pacientes con Sepsis Clínica:*

Aquellos pacientes con hemocultivo negativo que cumplían al menos dos criterios clínicos y dos criterios analíticos de sepsis neonatal.

3. *Pacientes con Sepsis Poco Probable:*

Aquellos pacientes incluidos en el estudio con hemocultivo negativo que cumplían al menos dos signos clínicos de infección pero sin cumplir al menos dos criterios analíticos de sepsis neonatal.

Asimismo se clasificó a los pacientes en un subgrupo en función de la gravedad:

- *Pacientes con Sepsis Grave:*

Aquellos pacientes con criterios de shock séptico y/o fracaso multiorgánico.

- *Pacientes con Sepsis no Grave:*

Aquellos pacientes sin criterios de shock séptico ni fracaso multiorgánico.

Los *Criterios de Exclusión* en el Estudio fueron los siguientes:

- Recién nacidos con síndromes malformativos
- Recién nacidos con cardiopatías congénitas
- Recién nacidos cuyos padres no autorizaron el estudio

3.2. DEFINICIONES

3.2.1 Definición de sepsis neonatal

Para el presente estudio se ha utilizado la definición de sepsis neonatal publicada en 2010 por la EMA (European Medicines Agency). Se define sepsis neonatal como la presencia de al menos 2 signos clínicos de sepsis junto al menos dos signos analíticos, como resultado de una infección sospechada o confirmada (Tabla 3.1).

3.2.2 Definición de shock séptico

Se definió shock séptico según los criterios del Consenso Internacional de Sepsis Pediátrica (Goldstein B 2005) como sepsis y disfunción cardiovascular definida en la tabla 3.3.

3.2.3 Definición de fracaso multiorgánico

Se definió fracaso multiorgánico según los criterios del Consenso Internacional de Sepsis Pediátrica (Goldstein B 2005) como fracaso de dos o más órganos según quedan definidos en la tabla 3.3.

Tabla 3.1. Signos clínicos y de laboratorio para el diagnóstico de sepsis neonatal. Deben cumplir al menos 2 signos clínicos y al menos 2 signos de laboratorio. (European Medicines Agency 2010).

Signos clínicos	Signos de laboratorio
<p>Alteración en la temperatura corporal:</p> <ul style="list-style-type: none"> - temperatura central mayor de 38,5 °C o menor de 36 °C Y/O - inestabilidad térmica <p>Inestabilidad cardiovascular:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bradicardia (media de FC menor del percentil 10 para la edad en ausencia de estímulos vagales externos, - Taquicardia (media de FC mayor de 2 DS de la media para la edad en ausencia de estímulos externos, drogas y estímulos dolorosos O ascenso persistente inexplicable de otra manera durante un periodo de 30 minutos a 4 horas) Y/O - inestabilidad del ritmo cardíaco - diuresis disminuida (menos de 1 mL/kg/h), - hipotensión (tensión arterial media por debajo del percentil 5 para la edad), - piel parcheada, - alteración de la perfusión periférica <p>Lesiones cutáneas y subcutáneas:</p> <ul style="list-style-type: none"> - exantema petequiral - esclerema <p>Inestabilidad respiratoria:</p> <ul style="list-style-type: none"> - episodios de apnea O - taquipnea (frecuencia respiratoria media por encima de 2 DS de la media para la edad) O - aumento de las necesidades de oxígeno O - necesidad de soporte respiratorio <p>Gastrointestinal:</p> <ul style="list-style-type: none"> - intolerancia alimentaria, - succión pobre - distensión abdominal <p>Signos inespecíficos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - irritabilidad, - letargia y - hipotonía 	<p>Recuento leucocitario</p> <ul style="list-style-type: none"> - <4000 x10⁹ células/L O - >20000 x10⁹ células/L <p>Índice infeccioso: neutrofilos inmaduros/n. totales (I/I)</p> <ul style="list-style-type: none"> - mayor de 0.2 <p>Recuento plaquetario</p> <ul style="list-style-type: none"> - <100.000 x10⁹ células/L <p>Proteína C reactiva > 15mg/L O procalcitonina ≥ 2¹ ng/ml.</p> <p>Alteraciones en la glucosa confirmadas al menos en 2 ocasiones</p> <ul style="list-style-type: none"> hiperglucemia (glucemia >180mg/dL o 10 mMol/L) O hipoglucemia (glucemia < 45 mg/dL o 2.5mMol/L) <p>recibiendo aportes de glucosa en rango normal para la edad</p> <p>Acidosis metabólica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Exceso de bases (EB) <10 mEq/L O - Ácido láctico > 2mMol/L <p>¹ El punto de corte de la PCT no se encuentra bien establecido en neonatos.</p>

Tabla 3.2. Definiciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRI), infección, sepsis, sepsis severa y shock séptico. (Goldstein B 2005)

Definiciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), infección, sepsis, sepsis severa y shock séptico
<p>SRIS (a)</p> <p>Presencia de al menos dos de los siguientes cuatro criterios, de los cuales temperatura o recuento leucocitario deben ser anormales:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Temperatura central (b) > 38,5°C o < 36°C. - Taquicardia: frecuencia cardíaca > 2 DS para la edad, en ausencia de estímulos externos, drogas de uso crónico o estímulos dolorosos, o elevada persistencia inexplicada por más de 0,5 a 4 horas, o para niños < 1 año bradicardia: < p10 para la edad en ausencia de estímulos vagales, β bloqueantes o cardiopatía congénita u otra causa inexplicable por más de 0,5 horas. - Polipnea: frecuencia respiratoria > 2 DS para la edad o ventilación mecánica para un proceso agudo no vinculado a enfermedad neuromuscular o anestesia general. - Leucocitos elevados o disminuidos para la edad (no secundario a quimioterapia) o > 10 % de neutrófilos inmaduros.
<p>Infección</p> <p>Infección sospechada o probada (por cultivo positivo, muestra de tejido o test de reacción en cadena de polimerasa causada por cualquier patógeno o un síndrome clínico asociado a una elevada probabilidad de infección). Evidencia de infección incluye hallazgos positivos al examen clínico, estudios de imágenes, o test de laboratorio (glóbulos blancos en un fluido corporal normalmente estéril, radiografía de tórax consistente con neumonía, rash purpúrico o petequeial o púrpura fulminante).</p>
<p>Sepsis</p> <p>SRIS en presencia o como resultado de una infección sospechada o comprobada.</p>
<p>Sepsis severa</p> <p>Sepsis más uno de los siguientes: disfunción cardiovascular o SDRA o, dos o más disfunciones de órganos definida en la tabla 3.3.</p>
<p>Shock séptico</p> <p>Sepsis y disfunción cardiovascular definida en la tabla 3.3.</p>
<p>(a) Ver tabla 1.1. para variables fisiológicas y de laboratorio, de acuerdo a rangos de edad.</p> <p>(b) La temperatura central debe ser medida a nivel rectal, vesical, oral o por catéter central. En negrita las diferencias con las definiciones de adultos.</p>

Tabla 3.3. Criterios para disfunción de órgano. (Goldstein B 2005)

Criterios para disfunción de órgano.	
Disfunción cardiovascular (a)	
Después de la administración de bolo de fluido isotónico ≥ 40 ml/kg en una hora	
- Hipotensión $< p5$ para la edad o PA sistólica < 2 DS para la edad,	o
- Necesidad de drogas vasoactivas para mantener TA en rango normal (dopamina > 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ o dobutamina, adrenalina o noradrenalina a cualquier dosis),	o
- Dos de los siguientes:	
.- Acidosis metabólica inexplicable: déficit de base $> 5,0$ mEq/l	
.- Aumento del lactato arterial > 2 veces del valor normal	
.- Oliguria: diuresis < 0.5 ml/kg/h	
.- Relleno capilar > 5 seg	
.- Diferencia de temperatura central/periférica $> 3^\circ\text{C}$	
Disfunción respiratoria (b)	
- PaO ₂ /FiO ₂ < 300 en ausencia de enfermedad cardíaca cianótica o enfermedad pulmonar preexistente,	o
- PaCO ₂ > 65 o 20 mm Hg mayor del valor basal de pCO ₂ ,	o
- Aumento de requerimientos (c) de O ₂ o más de 50 % de FiO ₂ para mantener SatO ₂ 92 %,	o
- Necesidad de ventilación mecánica invasiva o no invasiva (d).	
Disfunción neurológica	
- Score de coma de Glasgow < 11 ,	o
- Cambios agudos del estado de conciencia con disminución de ≥ 3 puntos de GCS basal.	
Disfunción hematológica	
- Plaquetas $< 80.000/\text{mm}^3$ o disminución del 50 % del recuento plaquetario previo más alto en últimos tres días (para pacientes hemato/oncológicos crónicos),	o
- INR > 2 .	
Disfunción renal	
- Creatinina sérica \geq dos veces del límite normal para la edad o aumento al doble del valor basal.	
Disfunción hepática	
- Bilirrubina total ≥ 4 mg/dl (no aplicable a recién nacido),	o
- Alanina transaminasa dos veces mayor del límite normal para la edad.	
<p>(a) Ver tabla 3.1; (b) síndrome de distrés respiratorio agudo puede incluir una PaO₂/FiO₂ ≤ 200 mm Hg, infiltrados bilaterales, inicio agudo, y no evidencia de fallo cardíaco izquierdo. Injuria pulmonar aguda se define de la misma forma excepto que la PaO₂/FiO₂ puede ser ≤ 300 mm Hg; (c) necesidad probada de O₂ asume requerimientos que son comprobados por la disminución del flujo y el subsiguiente aumento del flujo cuando son requeridos; (d) en el postoperatorio, los pacientes que requieren ventilación mecánica y que desarrollan una inflamación o infección aguda de los pulmones, lo que imposibilita su extubación, no deben ser incluidos.</p>	

3.2 MÉTODOS

3.2.1 MÉTODO CLÍNICO Y ANALÍTICO

3.2.1.1 Protocolo de actuación ante la sospecha de sepsis neonatal

Todos los recién nacidos con sospecha de sepsis fueron evaluados por un neonatólogo experimentado. A todos ellos se les realizó una batería de pruebas complementarias como screening de infección:

- Analítica completa con hemograma, bioquímica con perfil hepático, coagulación si sospecha de coagulopatía, reactantes de fase aguda (PCR y PCT) y gasometría con determinación de ácido láctico.
- Hemocultivo.
- Análisis de líquido cefalorraquídeo (LCR) si se consideró indicado.
- Cultivo de aspirado bronquial si intubación endotraqueal y sospecha de infección respiratoria.
- Sedimento de orina con urocultivo en casos de sepsis tardía.

Todos los recién nacidos con sospecha de sepsis en función de los datos clínicos y/o analíticos recibieron tratamiento empírico con antibioterapia intravenosa según el protocolo de nuestra unidad:

- Sepsis Precoz:
Ampicilina + Gentamicina iv. en ausencia de meningitis.
Ampicilina + Cefotaxima iv. en presencia de meningitis o cuando no fuera posible descartarla por imposibilidad de realización de análisis del LCR.

- Sepsis tardía:
Ampicilina + Cefotaxima iv. si no nosocomial.
Ceftazidima + Amikacina iv. si sepsis nosocomial +/-
Vancomicina iv. en función de sospecha de infección en relación con catéter.

Todos los recién nacidos recibieron además la terapia de soporte que precisaron, hemodinámica, respiratoria, hematológica, etc. según la patología que presentaron.

3.2.1.2 Determinación de melatonina

Las muestras de melatonina se tomaron en la Unidad Neonatal a la vez que el resto de determinaciones analíticas. Se extrajeron 0.8 ml de sangre que se enviaron al laboratorio. Una vez allí se separó el suero mediante centrifugación y se conservó a -20°C hasta su análisis.

Las muestras se enviaron al laboratorio central que se encuentra en Barcelona. La melatonina sérica se midió mediante radioinmunoensayo (RIA, del inglés *Radioimmunoassay*) que es un tipo de inmunoensayo o método radioinmunométrico que se basa en la formación específica de los complejos Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) lo que le dota de una gran especificidad unido a la sensibilidad de los métodos radiológicos. El RIA se basa en la competencia existente entre el antígeno no marcado (Ag) y una cantidad conocida del antígeno marcado (Ag*) para formar los complejos AgAc o Ag*Ac. Con estos tres componentes (Ag, Ag* y Ac) puede realizarse el ensayo en el que manteniendo constante la cantidad de Ag* y Ac se observará que a mayor cantidad de Ag menos Ag* queda unido a la cantidad fija de Ac (y por tanto menos radiactividad), lo que permitirá relacionar la radiactividad con la concentración de Ag.

El aparato que realizó la medición es el Contador Berhold cuyos coeficientes de variación intra e inter-ensayo son del 9.7 y 10.9%, respectivamente. La recuperación de la melatonina añadida es del 90% y la sensibilidad de detección de melatonina esta en 2.3 pg/ml de melatonina sérica.

Desde que se extrajo la muestra hasta la obtención de los resultados existió un tiempo de espera de unas dos semanas, aproximadamente.

Se anotaron junto a cada determinación de melatonina, la hora del día, el peso del recién nacido y los días de vida. En general, salvo al diagnóstico y a las 12 horas, las determinaciones de melatonina fueron realizadas a primera hora de la mañana debido a que por el funcionamiento de nuestra unidad suele ser la hora en que se realizan las analíticas rutinarias.

3.2.2 MÉTODO DE RECOGIDA DE DATOS

De cada recién nacido incluido en el estudio se obtuvieron datos clínicos y analíticos en diferentes momentos evolutivos:

- Al diagnóstico de sepsis.
- A las 12 horas del diagnóstico.
- A las 24 horas del diagnóstico.
- A las 48 horas del diagnóstico.
- A los 7 días del diagnóstico.

Todos estos datos fueron incluidos en una hoja de recogida de datos diseñada para tal fin (se adjunta en apartado de ANEXOS).

3.2.2.1 Datos clínicos

- Datos perinatales:
 - Fecha y hora de nacimiento.
 - Edad gestacional.
 - Peso al nacimiento.
 - Tipo de parto (eutócico, instrumental, cesárea).
 - Horas de bolsa rota.
 - Fiebre materna intraparto.
 - Tipo de reanimación neonatal.
 - Test de Apgar.
 - Administración de corticoides prenatales.

- Datos recogidos de forma evolutiva en cada determinación:
 - Fecha y hora de la determinación.
 - Días de vida en el momento de la determinación.
 - Peso en el momento de la determinación.
 - Existencia de shock séptico en el momento de la determinación.
 - Existencia de fracaso multiorgánico en el momento de la determinación.
 - Tipo de soporte respiratorio en el momento de la determinación (sin soporte, oxigenoterapia en gafas nasales, ventilación mecánica no invasiva, ventilación mecánica convencional, ventilación mecánica de alta frecuencia).
 - FiO₂ en el momento de la determinación.

3.2.2.2 Datos analíticos

Se recogieron de forma evolutiva en cada determinación:

- Niveles de melatonina.
- Gasometría: pH, Ácido Láctico.
- Leucocitos totales.
- Neutrófilos totales.
- Índice Infeccioso (Cociente Neutrófilos inmaduros/Neutrófilos Totales).
- Proteína C Reactiva (PCR).
- Procalcitonina (PCT.)

3.2.2.3 Definiciones operacionales

- Edad Gestacional (EG): según historia obstétrica. Se mide en semanas y séptimos de semanas (días).
- Tipo de parto:
 - Eutócico: el parto ocurre por vía vaginal, sin necesidad de realizar ninguna maniobra obstétrica.
 - Instrumental: el ginecólogo debe utilizar algún instrumento para extraer el feto.
 - Cesárea: se extrae al feto por intervención quirúrgica abdominal materna.
- Horas de bolsa rota: según los datos del partograma.
- Fiebre materna intraparto: según los datos del partograma, si la madre presenta temperatura axilar mayor o igual a 38°C.
- Tipo de Reanimación Neonatal: según la American Heart Association (Kattwinkel J 2010):

- Tipo I: evitar pérdida de calor, optimización de vía aérea, secado y estimulación.
- Tipo II: añadiendo a lo anterior la administración de oxígeno indirecto libre a 5 litros por minuto.
- Tipo III: cuando se precise ventilar al neonato con bolsa y mascarilla.
- Tipo IV: cuando se precise intubación endotraqueal o masaje cardiaco.
- Tipo V: cuando se precise la utilización de fármacos (adrenalina, bicarbonato) o expansores de volemia.

- Test de Apgar: Se realiza sumando la puntuación de los siguientes signos al minuto y a los 5 minutos de vida (Apgar V 1953).

Tabla 3.4. TEST DE APGAR (Apgar V 1953).

SIGNO	0	1	2
Frecuencia Cardíaca	Ausente	<100 l.p.m.	>100 l.p.m.
Esfuerzo respiratorio	Ausente	Irregular, lento	Llanto vigoroso
Tono muscular	Flácido	Extremidades algo flexionadas	Movimientos activos
Respuesta a estímulos	Sin respuesta	Muecas	Llanto
Coloración	Cianosis o palidez	Acrocianosis, tronco rosado	Rosáceo

- Administración de Corticoides prenatales: Si se ha administrado un ciclo de corticoides prenatalmente para inducir la maduración pulmonar fetal. Se administra a la gestante con amenaza de parto pretérmino por debajo de las 34 semanas de edad gestacional un ciclo que consiste en 2 dosis de betametasona intramuscular separadas 12 horas (ACOG Committee on Obstetric Practice 2011) .

- Shock séptico: Se utilizó la definición del último Consenso Internacional de Sepsis Pediátrica (Goldstein B 2005) que define shock séptico como sepsis y disfunción cardiovascular, definida esta última en Tabla 3.3.

- Fracaso multiorgánico: Se definió como fracaso de dos o más órganos según las definiciones del último Consenso Internacional de Sepsis Pediátrica (Goldstein B 2005) que se recogen en la Tabla 3.3.

- Tipo de soporte respiratorio:
 - Sin soporte
 - Oxigenoterapia en gafas nasales ya sea de bajo flujo (flujo máximo de 2 litros por minuto) o de alto flujo con aire humidificado (flujo mayor de 2 litros por minuto).
 - Ventilación mecánica no invasiva, CPAP (Presión positiva continua de la vía aérea) nasal. Se utiliza una presión media continua en la vía aérea a través de una interfase de mascarilla nasal o cánula nasal, con aire humidificado.
 - Ventilación mecánica invasiva convencional o de alta frecuencia.

- FiO₂: Fracción inspirada de oxígeno, va desde el 21% que existe en el aire ambiente hasta el 100%.

3.2.3 MÉTODO ESTADÍSTICO

3.2.3.1 Estadística descriptiva

Mediante la estadística descriptiva, recogemos, presentamos y caracterizamos nuestro conjunto de datos (medidas o números que hemos ido recogiendo mediante la observación) con el fin de describir apropiadamente nuestra muestra.

Nuestros datos se recogieron en una base de datos informática creada para tal fin. Para presentarlos nos ayudamos de tablas y gráficos.

Para la descripción de los datos cualitativos se utilizan frecuencias absolutas y porcentajes; para los datos cuantitativos nos servimos de la media, mediana, percentiles como medidas de tendencia central y del rango y desviación típica como medidas de dispersión.

A continuación se describen las definiciones mas relevantes:

- Media aritmética: es la suma de los valores dividido entre el número de valores
- Mediana: representa el valor de la variable de posición central en un conjunto de datos ordenados en forma creciente. Es la medida de posición central que deja igual número de observaciones inferiores que superiores a ella. Su cálculo no se ve afectado por valores extremos.
- Percentil: los percentiles dividen la distribución en 100 partes iguales, entendidas estas como intervalos que comprenden la misma proporción de valores.
- Rango: es la diferencia entre el valor máximo y mínimo de una distribución. Permite obtener una idea de la dispersión de los datos, cuanto mayor es el rango, más dispersos están los datos de un conjunto.
- Desviación típica o estándar: es la raíz cuadrada de la media aritmética de los cuadrados de las desviaciones respecto a la media.
- Coeficiente de variación: es el cociente entre la desviación típica y la media. Se expresa en porcentaje; se utiliza cuando se desea hacer referencia a la relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de la variable. A mayor

valor del coeficiente de variación mayor heterogeneidad de los valores de la variable.

- Error estándar de la media: es el cociente entre la desviación típica y la raíz cuadrada del número de individuos que componen la muestra.

3.2.3.1 Estadística inferencial

- Método de regresión lineal con efectos mixtos

Para analizar el perfil de evolución de determinados parámetros a lo largo del tiempo se han utilizado tradicionalmente, modelos tales como el análisis de la varianza (ANOVA) y el análisis de la covarianza (ANCOVA). Sin embargo, estos exigen el supuesto de independencia de las observaciones cuando se dispone de datos con medidas repetidas. En nuestra muestra disponemos de medidas repetidas en diferentes pacientes, pero también dentro del mismo paciente, siendo estas últimas por tanto medidas no independientes entre sí. Para solventar este problema, se utilizan en la actualidad los modelos de regresión lineales con efectos mixtos. Estos modelos sirven tanto para ver el perfil evolutivo de una variable a lo largo del tiempo, como para establecer asociación entre diferentes variables. Se utilizan para controlar el efecto de las medidas repetidas no independientes (Sheck DT 2011).

Para el estudio de la evolución de la melatonina en los diferentes grupos se han utilizado modelos de regresión con efectos mixtos. Hemos utilizado este método estadístico para controlar el efecto de las medidas repetidas en un mismo paciente. Se han utilizado como factores fijos el momento de la observación, el grupo y la interacción entre momento y grupo. Un efecto de interacción significativo ($p < 0.1$) indicaría diferencias entre los perfiles de evolución de la melatonina según el grupo. Se ha utilizado la corrección de Bonferroni para el análisis de las comparaciones post-hoc.

La asociación entre melatonina y diferentes variables clínicas y analíticas, a lo largo del tiempo de observación, también se ha estudiado utilizando modelos de regresión de efectos mixtos para controlar el efecto de las medidas repetidas en un mismo sujeto (no independencia de las observaciones).

Como variable dependiente se ha considerado la melatonina a lo largo del tiempo y como variable explicativa los valores de las diferentes variables analíticas y clínicas en los mismos momentos.

- Comparación de medias

Como análisis de sensibilidad para estos resultados también se ha realizado la comparación de medias de muestras independientes mediante la prueba estadística U de Mann-Whitney. Esta prueba se utiliza para comparar medias en muestras no paramétricas, es decir, en aquellas que no siguen una distribución normal o en el caso de muestras pequeñas.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

En el periodo comprendido entre Octubre de 2011 y Mayo de 2013 ingresaron 35 recién nacidos con sospecha de sepsis en la Unidad Neonatal. De ellos, 32 cumplieron los criterios de inclusión en el estudio y 3 fueron excluidos. Las causas de exclusión de los 3 recién nacidos fueron: uno porque los padres no autorizaron el estudio, otro por objetivarse que presentaba una cardiopatía congénita y el tercero porque falleció de un shock hemorrágico por laceración hepática.

De los 32 recién nacidos incluidos, 17 eran recién nacidos pretérmino (RNPT) y 15 recién nacidos a término (RNT). De los RNPT, 9 eran de peso menor a 1.500 g y 8 de peso mayor o igual a 1.500 g. La edad gestacional mínima fue de 24 semanas y 2 días.

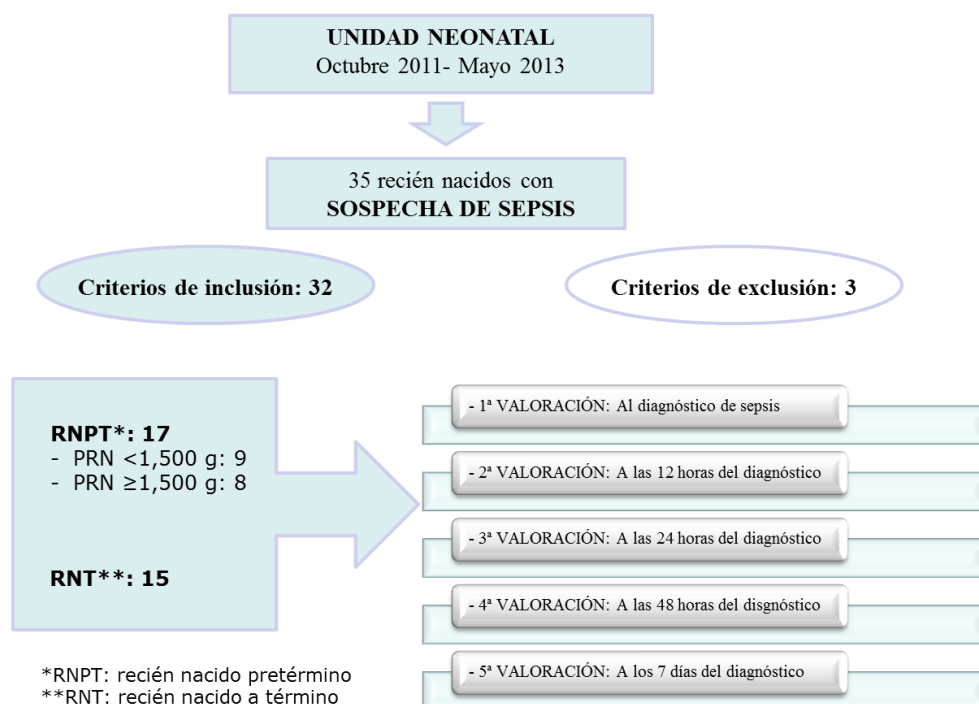


Figura 4.1. Diseño del estudio.

A continuación se describen las características perinatales de los 32 pacientes.

Tabla 4.1. CARACTERÍSTICAS PERINATALES I (n=32)

	Sexo	EG (semanas)	PRN (g)	Tipo de parto	Bolsa rota (h)	Fiebre materna
Caso 1	Varón	31,85	1880	Cesárea	0	No
Caso 2	Varón	32,28	2190	Cesárea	240	No
Caso 3	Mujer	39,85	3450	Vaginal	6	Si
Caso 4	Varón	40,28	3400	Cesárea	12	No
Caso 5	Mujer	37,14	4030	Cesárea	3	No
Caso 6	Mujer	38,14	2575	Cesárea	0	No
Caso 7	Varón	40	3150	Cesárea	5	No
Caso 8	Varón	35,42	2985	Vaginal	3	No
Caso 9	Varón	39,85	4230	Vaginal		No
Caso 10	Mujer	27,85	1070	Vaginal	336	No
Caso 11	Varón	39,85	3310	Vaginal		No
Caso 12	Mujer	25	500	Cesárea	0	No
Caso 13	Mujer	25,71	925	Cesárea	168	No
Caso 14	Mujer	35,57	2160	Cesárea	6	No
Caso 15	Mujer	25,71	925	Cesárea	168	No
Caso 16	Varón	25	700	Cesárea	0	No
Caso 17	Varón	31,57	1758	Cesárea	0	No
Caso 18	Varón	28,71	900	Cesárea	0	No
Caso 19	Mujer	30	910	Cesárea	0	No
Caso 20	Varón	35,42	2760	Vaginal	2	No
Caso 21	Varón	40,57	3370	Vaginal	6	No
Caso 22	Varón	40	3500	Vaginal	5	No
Caso 23	Varón	34,57	2560	Vaginal		No
Caso 24	Varón	24,28	560	Vaginal	22	No
Caso 25	Varón	37,71	2860	Vaginal	12	No
Caso 26	Varón	39,85	3600	Vaginal	3	No
Caso 27	Varón	33,85	2325	Vaginal	3	No
Caso 28	Mujer	39,14	2810	Vaginal		No
Caso 29	Varón	38,57	3120	Cesárea	0	No
Caso 30	Varón	26	800	Cesárea	48	No
Caso 31	Varón	40,14	3475	Vaginal	5	No
Caso 32	Varón	37,57	2940	Cesárea	0	No

Tabla 4.2. CARACTERÍSTICAS PERINATALES II (n=32)

	Corticoides prenatales	Tipo de reanimación	pH de cordón	Apgar 1 min	Apgar 5 min	Edad al diagnóstico (días)
Caso 1	Sí	1	7,36	9	9	2
Caso 2	Sí	4		5	7	0
Caso 3	No	3	6,94	6	8	3
Caso 4	No	3		6	7	2
Caso 5	No	1		9	10	14
Caso 6	No	1		9	10	1
Caso 7	No	1	7,22	9	10	1
Caso 8	No	1	7,13	8	9	1
Caso 9	No	1				10
Caso 10	Sí	4	7,07	6	8	22
Caso 11	No	1	7,19	8	9	16
Caso 12	Sí	4	7,3	7	8	7
Caso 13	No	4	7,39	6	8	7
Caso 14	No	2	7,3	7	8	1
Caso 15	No	4	7,39	6	8	26
Caso 16	Sí	4		7	8	28
Caso 17	Sí	3		9	10	1
Caso 18	No	4		6	7	28
Caso 19	Sí	2		8	9	20
Caso 20	No	1		9	10	7
Caso 21	No	1		9	10	13
Caso 22	No	1	7,17	9	9	4
Caso 23	No	3	7,28	9	9	1
Caso 24	Sí	4		5	8	5
Caso 25	No	1		9	10	5
Caso 26	No	1		9	10	2
Caso 27	Sí	4		6	7	0
Caso 28	No	1		9	10	13
Caso 29	No	1		8	9	1
Caso 30	Sí	4		5	8	6
Caso 31	No	1	7,13	7	9	2
Caso 32	No	1	7,29	8	9	2

4.2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEMOGRÁFICA

A continuación analizaremos la estadística descriptiva de las variables demográficas.

	Edad Gestacional (semanas)	Peso (gramos)
Media	34,29	2366,5
Mediana	35,49	2667,5
Mínimo	24,28	500
Máximo	40,57	4230
Desviación estándar	5,64	1132,41
Intervalo de confianza al 95%	32,26-36,33	1958,22-2774,78
p25	29,03	961,25
p50	35,49	2667,5
p75	39,85	3355

En cuanto a la edad gestacional, 15 recién nacidos eran recién nacidos a término (RNT) y 17 recién nacidos pretérmino (RNPT).

EDAD GESTACIONAL	Frecuencia	Porcentaje
Menor de 30 semanas de EG	8	25%
Mayor o igual a 30 semanas y menor de 37	9	28,13%
Mayor o igual a 37 semanas de EG	15	46,88%
Total	32	100%

En cuanto al peso al nacimiento 9 eran menores a 1.500 g y 23 de peso mayor o igual a 1.500 g.

Tabla 4.5. Descripción del peso al nacimiento, en dos grupos.		
PESO AL NACIMIENTO	Frecuencia	Porcentaje
Menor de 1500 g	9	28,13%
Mayor o igual a 1500 g	23	71,88%
Total	32	100%



Figura 4.2. Descripción del peso al nacimiento, en 2 grupos.

En cuanto al peso en el recién nacido a término, la media fue de 3.321 g, con un peso mínimo de 2.575 g y máximo de 4.230 g.

Tabla 4.6. PESO al nacimiento EN EL RNT (g)	
Media	3321
Mediana	3370
Mínimo	2575
Máximo	4230
Desviación estándar	441,82
Intervalo de confianza al 95%	3076,66- 3566,01
p25	2940
p50	3370
p75	3500

Analizando el peso en el recién nacido pretérmino (RNPT) encontramos una media de peso de 1.524 g, de los que 9 eran de peso inferior a 1.500 g y 8 recién nacidos pretérmino de peso mayor o igual a 1.500 g.

Media	1524
Mediana	1070
Mínimo	500
Máximo	2985
Desviación estándar	839,56
Intervalo de confianza al 95%	1092,33- 1955,66
p25	850
p50	1070
p75	2257,5

Peso al nacimiento	Frecuencia	Porcentaje
Menor de 1500 g	9	52,94%
Mayor o igual a 1500 g	8	47,06%
Total	17	100%

En cuanto al sexo, encontramos el doble de varones que de mujeres, un 68 y 31%, respectivamente, en nuestra muestra.

SEXO	Frecuencia	Porcentaje
Mujeres	10	31,25%
Varones	22	68,75%
Total	32	100%

En cuanto al tipo de parto, encontramos una frecuencia similar de partos vaginales frente a cesáreas. De los 17 pacientes que nacieron mediante cesárea, 11 eran RNPT y 6 RNT. De los 15 pacientes que nacieron mediante parto vaginal, 6 eran RNPT y 9 RNT.

Tabla 4.10. Descripción del tipo de parto.

TIPO DE PARTO	Frecuencia	Porcentaje
Cesárea	17	53,13%
Vaginal	15	46,88%
Total	32	100%

En la mayor parte de los pacientes, el tiempo de bolsa rota fue inferior a 18 horas. En 6 pacientes el tiempo de bolsa rota superó las 18 horas, con una media de horas de bolsa rota en este grupo de 163 horas. Solo en un paciente existió fiebre materna durante el parto.

Tabla 4.11. Descripción del tiempo de bolsa rota.

TIEMPO DE BOLSA ROTA	Frecuencia	Porcentaje
Menor de 18 horas	23	71,88%
Mayor o igual a 18 horas	6	18,75%
Desconocida	3	9,38%
Total	32	100%

La mayoría de los pacientes no recibieron corticoides prenatales, administrados a la madre de forma previa al parto, a dosis estándar. Se administraron en 10 pacientes, todos ellos recién nacidos pretérmino, 6 de peso menor a 1.500 g y 4 de peso mayor o igual a 1.500 g. Ninguno de los recién nacido a término y 7 de los recién nacidos pretérmino no recibieron corticoides prenatales. De los siete prematuros que no recibieron corticoides

prenatales, cuatro fueron mayores a 34 semanas de edad gestacional y tres menores a 34 semanas de edad gestacional.

Tabla 4.12. Descripción de la administración de corticoides prenatales.

CORTICOIDES PRENATALES	Frecuencia	Porcentaje
Sí	10	31,25%
No	22	68,75%
Total	32	100%

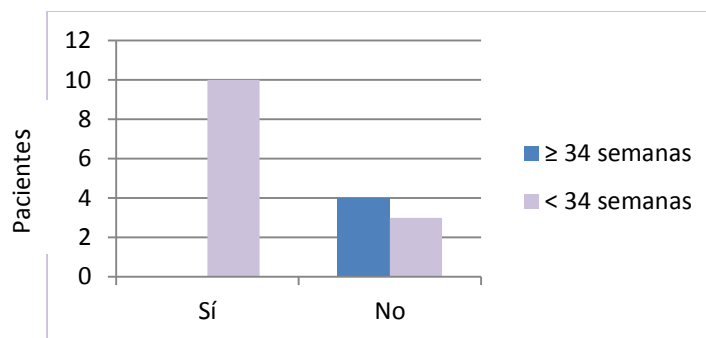


Figura 4.3. Administración de corticoides prenatales en el recién nacido pretérmino.

En cuanto al tipo de reanimación, de los 15 recién nacidos a término, 13 recibieron una reanimación superficial o Tipo I y 2 una reanimación Tipo III. A continuación se describe el tipo de reanimación en el recién nacido pretérmino.

Tabla 4.13. Descripción del tipo de reanimación en el recién nacido pretérmino, por grupos de peso.

REANIMACIÓN	Frecuencia	Porcentaje	Menores de 1.500 g	Mayores o iguales a 1.500 g
Tipo I	3	17,65%	0	3
Tipo II	2	11,76%	1	1
Tipo III	2	11,76%	0	2
Tipo IV	10	58,82%	8	2
Tipo V	0	0%	0	0
Total	17	100%	9	7

Con respecto a la edad al diagnóstico de sepsis, el rango fue desde el nacimiento hasta los 28 días de vida, con una media de 7,8 días.

Tabla 4.14. EDAD AL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS (días)	
Media	7,81
Mediana	4,5
Mínimo	0
Máximo	28
Desviación estándar	8,6
Intervalo de confianza al 95%	4,71- 10,91
p25	1
p50	4,5
p75	13

4.3. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES EN RELACIÓN CON LA INFECCIÓN

Tras la inclusión en el estudio y una vez confirmados los resultados de los cultivos, se clasificó a los pacientes en 3 grupos diferentes: Sepsis poco probable, sepsis clínica y sepsis confirmada. 8 pacientes no cumplían al menos dos criterios analíticos de sepsis (no cumplieron al menos 2 criterios analíticos ni al diagnóstico ni en ningún momento de la evolución) según la definición expuesta previamente, siendo clasificados en el grupo de sepsis poco probable. Existió confirmación bacteriológica con hemocultivo positivo en 7 pacientes.

Tabla 4.15. Descripción de los 3 grupos de clasificación de los pacientes.

CLASIFICACIÓN DE LA SEPSIS	Frecuencia	Porcentaje
Sepsis poco probable	8	25%
Sepsis clínica	17	53.13%
Sepsis confirmada	7	21.88%
Total	32	100%

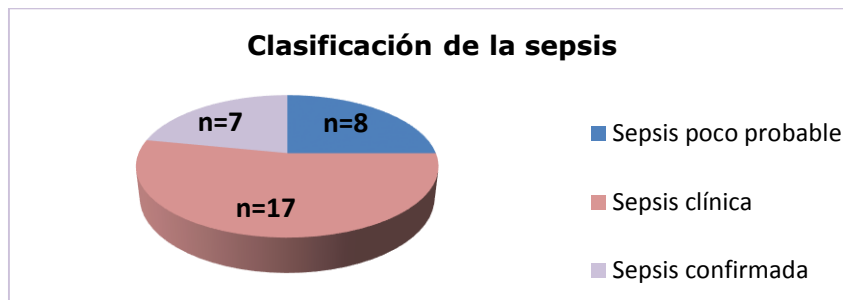


Figura 4.4. Clasificación de la sepsis en 3 grupos.

En las siguientes tablas quedan reflejadas las características epidemiológicas más relevantes de los pacientes incluidos en los 3 grupos de clasificación.

Tabla 4.16. Características epidemiológicas del grupo de SEPSIS POCO PROBABLE

	Sexo	EG (semanas)	PRN (g)	Tipo de parto	Corticoides prenatales	Edad al diagnóstico (días)
1	Mujer	25	500	Cesárea	Sí	7
2	Mujer	35,57	2160	Cesárea	No	1
3	Varón	40,57	3370	Vaginal	No	13
4	Varón	40	3500	Vaginal	No	4
5	Varón	34,57	2560	Vaginal	No	1
6	Mujer	39,14	2810	Vaginal	No	13
7	Varón	40,14	3475	Vaginal	No	2
8	Varón	37,57	2940	Cesárea	No	2
	3 Mujeres 5 Varones	3 RNPT 5 RNT	1 < 1500 g 7 > 1500 g	3 Cesárea 5 vaginal	1 Sí 7 No	Media=8,5 días

Tabla 4.17. Características epidemiológicas del grupo de SEPSIS CLÍNICA

	Sexo	EG (semanas)	PRN (g)	Tipo de parto	Corticoides prenatales	Edad al diagnóstico (días)
1	Varón	31,85	1880	Cesárea	Sí	2
2	Mujer	39,85	3450	Vaginal	No	3
3	Varón	40,28	3400	Cesárea	No	2
4	Mujer	38,14	2575	Cesárea	No	1
5	Varón	40	3150	Cesárea	No	1
6	Varón	35,42	2985	Vaginal	No	1
7	Varón	39,85	3310	Vaginal	No	16
8	Mujer	25,71	925	Cesárea	No	7
9	Mujer	25,71	925	Cesárea	No	26
10	Varón	31,57	1758	Cesárea	Sí	1
11	Mujer	30	910	Cesárea	Sí	20
12	Varón	24,28	560	Vaginal	Sí	5
13	Varón	37,71	2860	Vaginal	No	5
14	Varón	39,85	3600	Vaginal	No	2
15	Varón	33,85	2325	Vaginal	Sí	0
16	Varón	38,57	3120	Cesárea	No	1
17	Varón	26	800	Cesárea	Sí	6
	5 Mujeres 12 Varones	9 RNPT 8 RNT	5<1500 g 12>1500 g	10 Cesárea 7 vaginal	6 Sí 11 No	Media=5,8 días

Tabla 4.18. Características epidemiológicas del grupo de SEPSIS CONFIRMADA

	Sexo	EG (semanas)	PRN (g)	Tipo de parto	Corticoides prenatales	Edad al diagnóstico (días)
1	Varón	32,28	2190	Cesárea	Sí	0
2	Mujer	37,14	4030	Cesárea	No	14
3	Varón	39,85	4230	Vaginal	No	10
4	Mujer	27,85	1070	Vaginal	Sí	22
5	Varón	25	700	Cesárea	Sí	28
6	Varón	28,71	900	Cesárea	No	28
7	Varón	35,42	2760	Vaginal	No	7
	2 Mujeres 5 Varones	5 RNPT 2 RNT	3<1500 g 4>1500 g	4 Cesárea 3 vaginal	3 Sí 4 No	Media=15,5 días

A continuación se describen las variables en relación con la infección al diagnóstico de sepsis. El resto de datos clínicos y analíticos recogidos durante la evolución de la sepsis quedan reflejados en el apartado de ANEXOS.

Tabla 4.19. CARACTERÍSTICAS AL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS I.
Variables en relación con la infección.

	EG (semanas)	Edad al diagnóstico (días)	Leucocitos (mm ³)	Neutrófilos (mm ³)	PCR (mg/L)	PCT (ng/ml)
Caso 1	31,85	2	8.200	4.300	29.22	6.13
Caso 2	32,28	0	9.400	200	33.58	38.8
Caso 3	39,85	3				
Caso 4	40,28	2	18.900	13.100	89	6.83
Caso 5	37,14	14	22.400	14.500	46.45	1.62
Caso 6	38,14	1	44.400	28.900	3.47	17.13
Caso 7	40	1	26.200	16.800	31.27	1.79
Caso 8	35,42	1	14.200	8.400	0.62	4.25
Caso 9	39,85	10	30.700	24.300	81.86	39.68
Caso 10	27,85	22	21.100	11.600	49.2	23.47
Caso 11	39,85	16	2.600	900	61.6	16.75
Caso 12	25	7	12.300	5.900	0.89	0.89
Caso 13	25,71	7	32.500	19.200	1.32	0.53
Caso 14	35,57	1	24.300	14.800	5.89	43.05
Caso 15	25,71	26	3.400	2.000	9.31	3.45
Caso 16	25	28	14.800	9.900	54.38	6.19
Caso 17	31,57	1	9.000	3.300	38.06	47.96
Caso 18	28,71	27	10.000	8.100	8.31	0.92
Caso 19	30	20	11.500	9.300	36.87	44.2
Caso 20	35,42	7	6.500	2.200	18.41	30.34
Caso 21	40,57	13	13.900	5.800	0.69	0.05
Caso 22	40	4	9.600	4.600	11.8	0.3
Caso 23	34,57	1	18.100	12.600	2.08	0.23
Caso 24	24,28	5	6.700	800	2.55	9.2
Caso 25	37,71	5	8.000	3.400	38.53	10.67
Caso 26	39,85	2	23.000	14.200	69	6.87
Caso 27	33,85	0	21.000	8.000	0.19	0.13
Caso 28	39,14	13	10.800	7.400	4.19	0.89
Caso 29	38,57	1	25.100	18.200	2.78	48.35
Caso 30	26	6	14.200	7.400	0.37	0.5
Caso 31	40,14	2	8.400	3.200	10.85	6.46
Caso 32	37,57	2	8.400	3.200	2.89	4.85

**Tabla 4.20. CARACTERÍSTICAS AL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS II.
Variables en relación con la infección.**

	pH	Láctico (mmol/L)	Soporte Respiratorio*	FiO2 (%)	Shock	Fracaso multiorgánico
Caso 1	7,3	0,8	VMC	70	Sí	No
Caso 2	7	15	VAFO	100	Sí	Sí
Caso 3					Sí	No
Caso 4	7,4	4,1	CPAP	21	No	No
Caso 5	7,3	0,9	CPAP	21	No	No
Caso 6		2,7	No	21	No	No
Caso 7	7,2	3,9	GN	25	No	No
Caso 8	7,2	2,4	VMC	30	No	No
Caso 9	7,3	8,4	No	21	No	No
Caso 10	7,3	1,7	GN	21	No	No
Caso 11	7,3	4,6	No	21	No	No
Caso 12	7,2	0,9	VMC	40	Sí	No
Caso 13	7,4	1,3	CPAP	25	No	No
Caso 14	7,3	2,5	GN	30	No	No
Caso 15	7,4	1,6	GN	21	No	No
Caso 16	7,3	2,7	VMC	45	No	No
Caso 17	7,4	4,5	CPAP	30	No	No
Caso 18	7,3	1,5	CPAP	30	No	No
Caso 19	7,2	2,8	GN	30	No	No
Caso 20	7,4	2,3	No	21	No	No
Caso 21	7,4	2,3	No	21	No	No
Caso 22	7,4	2,8	No	21	No	No
Caso 23	7,3	2,5	CPAP	21	No	No
Caso 24	7,2	3	VMC	100	Sí	Sí
Caso 25	7,3	9,4	VMC	50	Sí	Sí
Caso 26	7,3	3,3	GN		No	No
Caso 27	7,3	3,5	VMC	35	No	No
Caso 28	7,3	2,5	No	21	No	No
Caso 29	7,4	2	GN		No	No
Caso 30	7,4	1,3	VMC	24	No	No
Caso 31	7,5	2,5	No	21	No	No
Caso 32	7,4	1,3	No	21	No	No

Soporte Respiratorio* (GN= Oxigenoterapia en Gafas Nasaes; CPAP= Presión Positiva Continua en la vía aérea; VMC=Ventilación Mecánica Convencional; VAFO= Ventilación mecánica de Alta Frecuencia.)

En cuanto a la gravedad de la sepsis, al diagnóstico seis pacientes cumplían criterios de shock séptico y tres presentaban fracaso multiorgánico. A las 12 horas del diagnóstico tres pacientes presentaban shock séptico y cuatro fracaso multiorgánico. A las 24 horas del diagnóstico cinco pacientes presentaban shock séptico y tres fracaso multiorgánico. A las 48 horas del diagnóstico tres pacientes presentaban shock séptico y dos fracaso multiorgánico. A los 7 días, dos pacientes presentaban shock séptico y fracaso multiorgánico.

Tabla 4.21. Descripción de la frecuencia de shock séptico y fracaso multiorgánico.

	Shock Séptico		Fracaso Multiorgánico	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Al diagnóstico	6	18,75%	3	9,38%
A las 12 horas	6	18,75%	4	12,50%
A las 24 horas	5	16%	3	9%
A las 48 horas	3	9,38%	2	6,25%
A los 7 días	2	6,25%	2	6,25%

Un total de seis pacientes cumplieron criterios de sepsis grave en algún momento de la evolución de la sepsis.

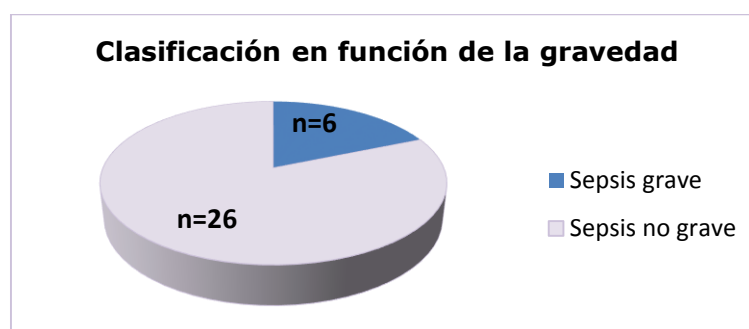


Figura 4.5. Clasificación de la sepsis en función de la gravedad, en dos grupos.

A continuación se muestran con gráficos la evolución de los leucocitos, los neutrófilos totales, la PCR y la PCT durante la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis.

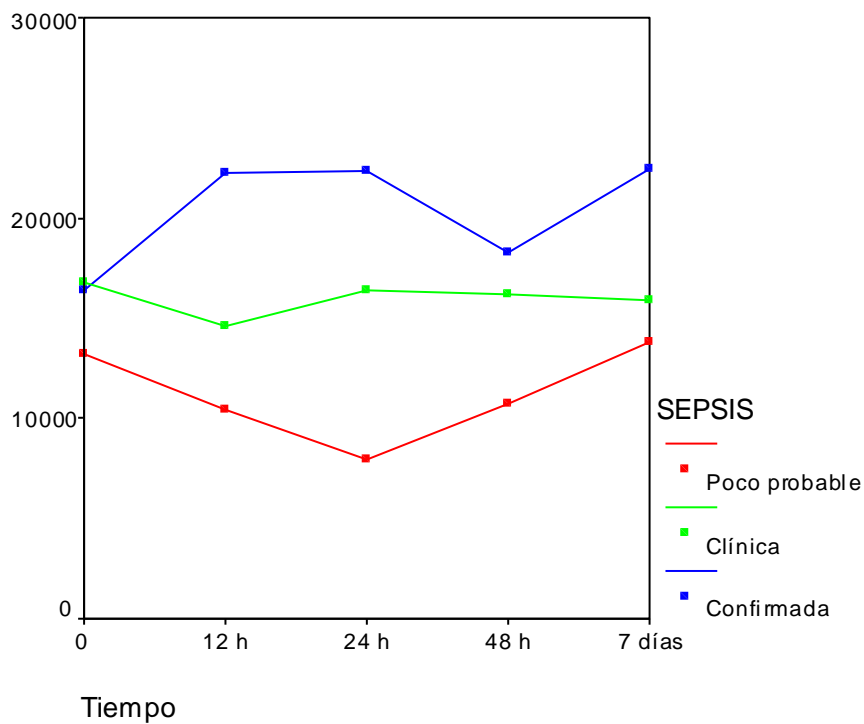


Figura 4.6. Gráfico que muestra la evolución de los leucocitos a lo largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis.

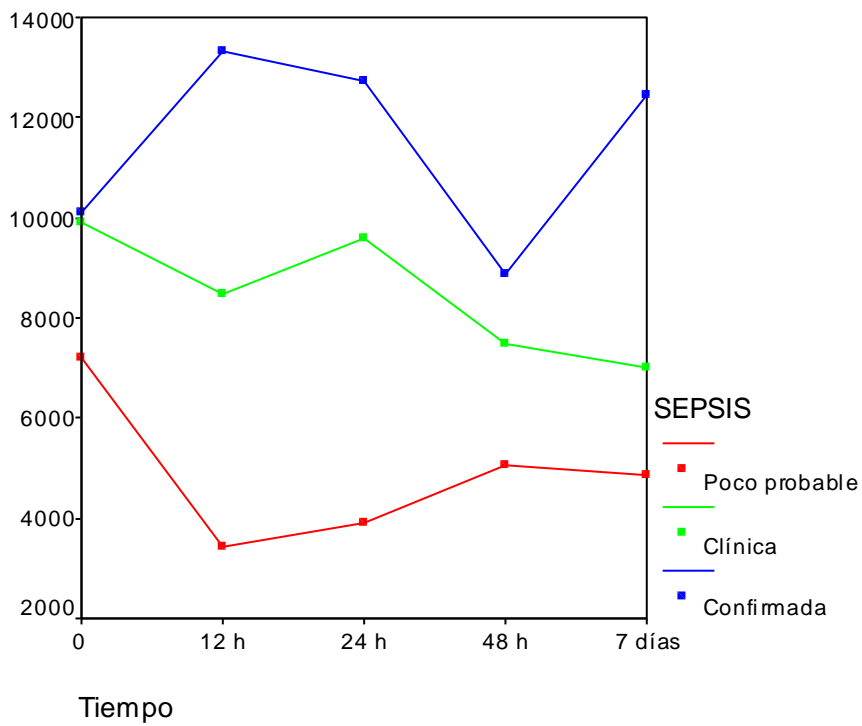


Figura 4.7. Gráfico que muestra la evolución de los Neutrófilos a lo largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis.

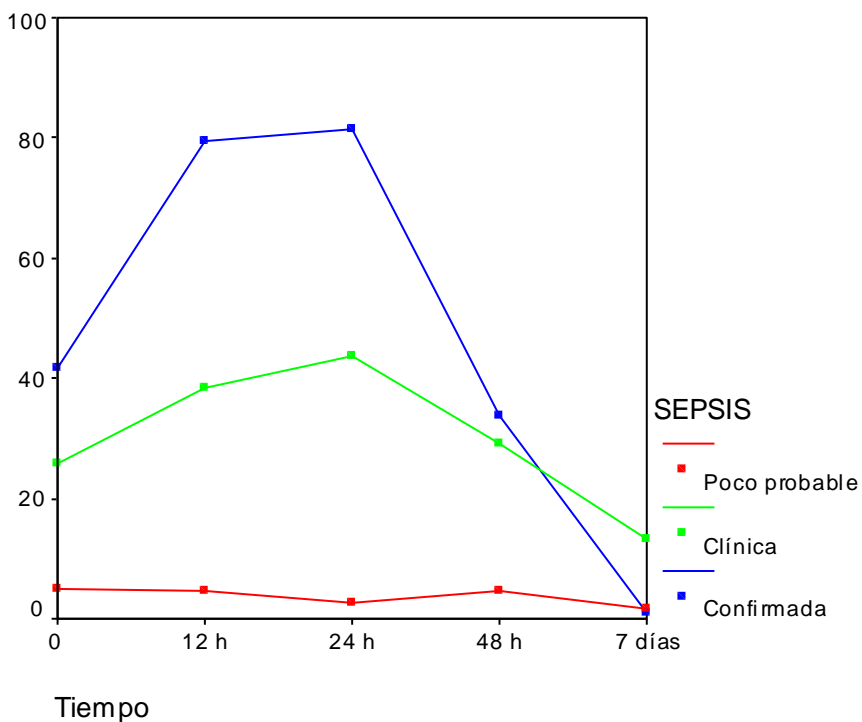


Figura 4.8. Gráfico que muestra la evolución de la PCR a lo largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis.

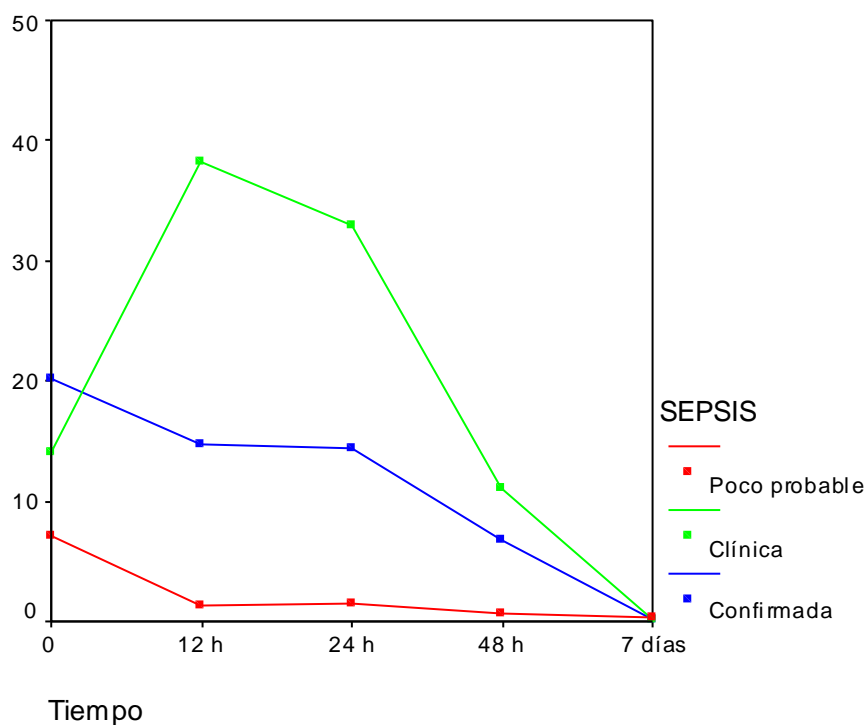


Figura 4.9. Gráfico que muestra la evolución de la PCT a lo largo de la sepsis neonatal, en función del grupo de clasificación de sepsis.

Un total de tres pacientes fallecieron, todos ellos RNPT. Un paciente (Caso 2) falleció a las 12 horas del diagnóstico confirmandose posteriormente una sepsis precoz por *E. Coli*. El segundo (Caso 12) presentaba una enterocolitis necrotizante grado III y falleció a los 7 días del diagnóstico. El tercero (caso 24) era un prematuro extremo que falleció a los 6 días de vida, a las 36 horas del diagnóstico. Todos ellos presentaban shock séptico al diagnóstico de sepsis y dos de ellos (Caso 2 y Caso 24) presentaban fracaso multiorgánico al diagnóstico.

A continuación se muestran las características perinatales y al diagnóstico de sepsis de los tres pacientes fallecidos.

Tabla 4.22. Características perinatales y al diagnóstico de sepsis de los fallecidos.

CARACTERÍSTICAS PERINATALES I						
	Sexo	EG (semanas)	PRN (g)	Tipo de parto	Bolsa rota (h)	Fiebre materna
Caso 2	Varón	32,28	2190	Cesárea	240	No
Caso 12	Mujer	25	500	Cesárea	0	No
Caso 24	Varón	24,28	560	Vaginal	22	No

CARACTERÍSTICAS PERINATALES II					
	Corticoides prenatales	Tipo de reanimación	pH de cordón	Apgar 1 min	Apgar 5 min
Caso 2	Sí	4		5	7
Caso 12	Sí	4	7,3	7	8
Caso 24	Sí	4		5	8

CARACTERÍSTICAS AL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS I					
	Edad al diagnóstico (días)	Leucocitos	Neutrófilos	PCR (mg/L)	PCT (ng/ml)
Caso 2	0	9.400	200	33.58	38.8
Caso 12	7	12.300	5.900	0.89	0.89
Caso 24	5	6.700	800	2.55	9.2

CARACTERÍSTICAS AL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS II						
	pH	Láctico (mmol/L)	Soporte Respiratorio	FiO2 (%)	Shock	Fracaso multiorgánico
Caso 2	7	15	VAFO	100	Sí	Sí
Caso 12	7,2	0,9	VMC	40	Sí	No
Caso 14	7,3	2,5	VMC	100	No	No

4.4. DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS NIVELES DE MELATONINA EN LA EVOLUCIÓN DE LA SEPSIS NEONATAL

A continuación analizaremos detalladamente los niveles séricos de melatonina a lo largo de la sepsis neonatal. En la tabla 4.23 se muestran los niveles de melatonina, medida en pg/ml, obtenidos en todas las determinaciones.

Tabla 4.23. NIVELES DE MELATONINA (pg/ml)

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Caso 1	>1000				18,9
Caso 2	<2	Exitus			
Caso 3			9,2	<2	16,8
Caso 4	151,1	83,2	72,3	30,9	60,9
Caso 5	14,9	24,2	30,2	29,8	38
Caso 6	10,3	11,6	21,6	27,5	32,4
Caso 7	16,7		17,2	38	40,7
Caso 8		95,4	27,8	19,2	16,7
Caso 9	18,6	26,8	12,1	10	37,4
Caso 10	6,9	8,9	7,7	8,8	4
Caso 11	55,8	29,3	37,8	24,8	
Caso 12	6,5	8,3	16,1	12,9	27,5 Exitus
Caso 13	294			16	7,3
Caso 14	3			30,1	13,3
Caso 15	6,1				
Caso 16	17,9				
Caso 17	<2	17,7	18,1	20,3	16
Caso 18	6,6	4,3	5,2	9,7	<2
Caso 19		10,6			15,1
Caso 20	32,2	42	35	39,9	22,1
Caso 21	21,9	21,9	15	15,3	20,6
Caso 22		7,8		8,8	11,8
Caso 23		14,1	14	5,2	
Caso 24	36,5	50,6	109,6	Exitus	
Caso 25	5,5	30	14,6	7,1	95,7
Caso 26	21,9	22,6		12,4	
Caso 27		26		25,5	
Caso 28	1,7	2	2	2	10,6
Caso 29	8,6	2	8,6	34,2	291,3
Caso 30	44,8	62,6	44,3	24	19
Caso 31	49,3	39,3	44,3	28,7	
Caso 32	28,7	6,4		27,5	16,7

Para la realización del análisis estadístico se excluyó el valor de melatonina de “>1000” por considerar que al ser un valor muy extremo podría producir un sesgo. Los valores de melatonina “<2” obtenidos en 4 determinaciones fueron sustituidos para el análisis por un valor de 1,9. En la tabla 4.24 se muestra el análisis descriptivo de los niveles de melatonina durante la sepsis neonatal.

Tabla 4.24. MELATONINA EN LA SEPSIS NEONATAL (pg/ml), n=32

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Media	34,53	26,98	26,79	19,63	36,29
Mediana	16,7	22,25	17,2	19,75	18,88
Mínimo	1,7	2	2	1,9	1,9
Máximo	294	95,4	109,6	39,9	291,3
Desviación Estándar	62,15	24,76	25,3	11,19	59,23
Intervalo de Confianza al 95%	8,87- 60,18	16,52- 37,43	15,27- 38,31	15,11- 24,15	10,67- 61,90
P25	6,3	8,45	10,65	9,47	13,3
P50	16,7	22,25	17,2	19,75	18,88
P75	34,35	36,97	36,4	28,97	37,4

- Análisis de los niveles de melatonina en función del grupo de clasificación de sepsis

Para el análisis descriptivo y estadístico de la melatonina se han considerado dos grupos de clasificación:

- Sepsis poco probable
- Sepsis clínica o sepsis confirmada

Hemos realizado la clasificación en dos grupos, uniendo el grupo de sepsis confirmada y el grupo de sepsis clínica.

En la siguiente tabla se muestra la evolución de los niveles de melatonina a lo largo de la sepsis en función de los dos grupos de clasificación.

Tabla 4.25. MELATONINA en el grupo de SEPSIS POCO PROBABLE (pg/ml), n=8

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Media	18,51	14,25	18,28	16,31	16,75
Mediana	14,2	8,3	15	14,1	15
Mínimo	1,7	2	2	2	10,6
Máximo	49,3	39,3	44,3	30,1	27,5
Desviación Estándar	18,6	12,74	15,62	11,12	6,39
Intervalo de Confianza al 95%	-1,00- 38,04	2,46- 26,04	-1,11- 37,67	7,01- 25,61	10,03- 23,46
P25	2,67	6,4	8	6,1	11,5
P50	14,2	8,3	15	14,1	15
P75	33,85	21,9	30,2	28,4	22,32

Tabla 4.26. MELATONINA en el grupo de SEPSIS CLINICA O CONFIRMADA (pg/ml), n=24

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Media	39,58	32,22	29,45	21,11	43,18
Mediana	16,7	26	19,85	22,15	19
Mínimo	1,9	2	5,2	1,9	1,9
Máximo	294	95,4	109,6	39,9	291,3
Desviación Estándar	70,3	26,83	27,51	11,21	67,95
Intervalo de Confianza al 95%	5,70-73,47	18,42- 46,02	14,79- 44,11	15,53-26,69	8,24-78,12
P25	6,6	11,1	9,92	9,92	15,55
P50	16,7	26	19,85	22,15	19
P75	36,5	46,3	37,1	30,07	39,35

Si analizamos los niveles de melatonina en la evolución de la sepsis, en los 2 grupos de clasificación (sepsis poco probable, sepsis clínica o sepsis confirmada), vemos que, la media de melatonina en los pacientes con sepsis clínica o confirmada es mayor que la media de melatonina de los pacientes con sepsis poco probable. Estos niveles son mayores en cualquier momento de la evolución de la sepsis.

En el siguiente gráfico se muestra la evolución de los niveles de melatonina a lo largo de la sepsis en función de los dos grupos de clasificación. Se marcan las melatoninas medias en cada momento, la desviación estándar de la media queda reflejada en las tablas 4.25 y 4.26.

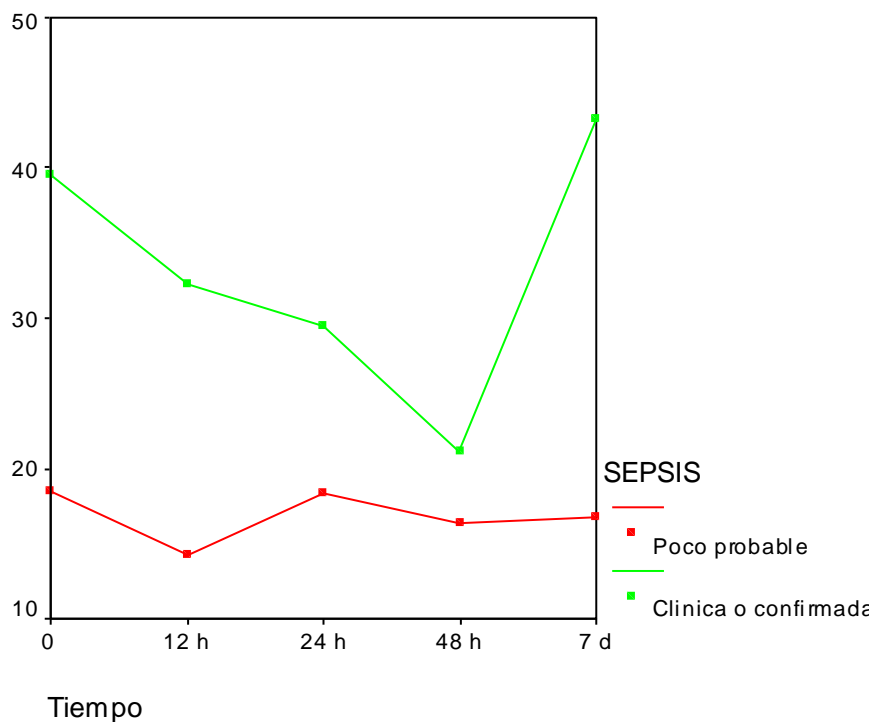


Figura 4.10. Gráfico de la evolución de la melatonina en la sepsis poco probable y en la sepsis clínica o confirmada. Se marcan las melatoninas medias en cada momento, la desviación estándar de la media queda reflejada en las tablas 4.25 y 4.26.

Vemos que en el grupo de sepsis poco probable los niveles de melatonina se mantienen más o menos estables a lo largo de la evolución. El grupo de sepsis clínica o confirmada parte de unos niveles de melatonina más elevados, tendiendo ésta a descender de forma progresiva durante las primeras 48 horas, encontrando a los 7 días una recuperación de los niveles de partida.

Estudiando el perfil evolutivo de la melatonina con *Efectos Mixtos* no se detecta efecto de la interacción ($p=0,576$) lo cual significa que los perfiles de evolución de la melatonina irían de forma paralela. No obstante, el grupo de sepsis clínica o confirmada presentó valores que tendían a ser mayores que los del grupo de sepsis poco probable ($p=0.077$), siendo el momento de las 12 horas del diagnóstico donde encontramos una diferencia más próxima a la significación ($p=0,11$).

Como análisis de sensibilidad para estos resultados se compararon las medias en cada momento utilizando la *U de Mann-Whitney* obteniendo resultados similares. Realizando en análisis estadístico de comparación de medias para muestras no paramétricas mediante la U de Mann-Whitney vemos que solo existe una diferencia que se acerca a la significación a las 12 horas del diagnóstico con una $p<0.05$. En la tabla 4.27 se muestran los resultados obtenidos mediante esta prueba estadística, vemos la comparación de la melatonina media al diagnóstico, a las 12 horas, a las 24 horas, a las 48 horas y a los 7 días del diagnóstico, en el grupo de sepsis poco probable frente al grupo de sepsis clínica o confirmada.

Tabla 4.27. COMPARACIÓN DE MEDIAS (U de Mann-Whitney)

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Melatonina Sepsis Poco Probable (pg/ml)	18,51	14,25	18,28	16,31	16,75
Melatonina Sepsis Clínica o Confirmada (pg/ml)	39,58	32,22	29,45	21,11	43,18
p valor	0,555	0,055	0,445	0,397	0,227

- Niveles de melatonina como posible factor predictor se sepsis neonatal

Análizando las curvas ROC de los niveles de melatonina en la sepsis neonatal encontramos que al diagnóstico posee una sensibilidad y especificidad muy pobre con un área bajo la curva del 58%. Encontramos una mejor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de sepsis a las 12 horas del diagnóstico con un área bajo la curva del 75%. Es decir, estableciendo un punto de corte en el nivel de melatonina a las 12 horas podríamos diagnosticar el 75% de los pacientes con sepsis clínica o confirmada.

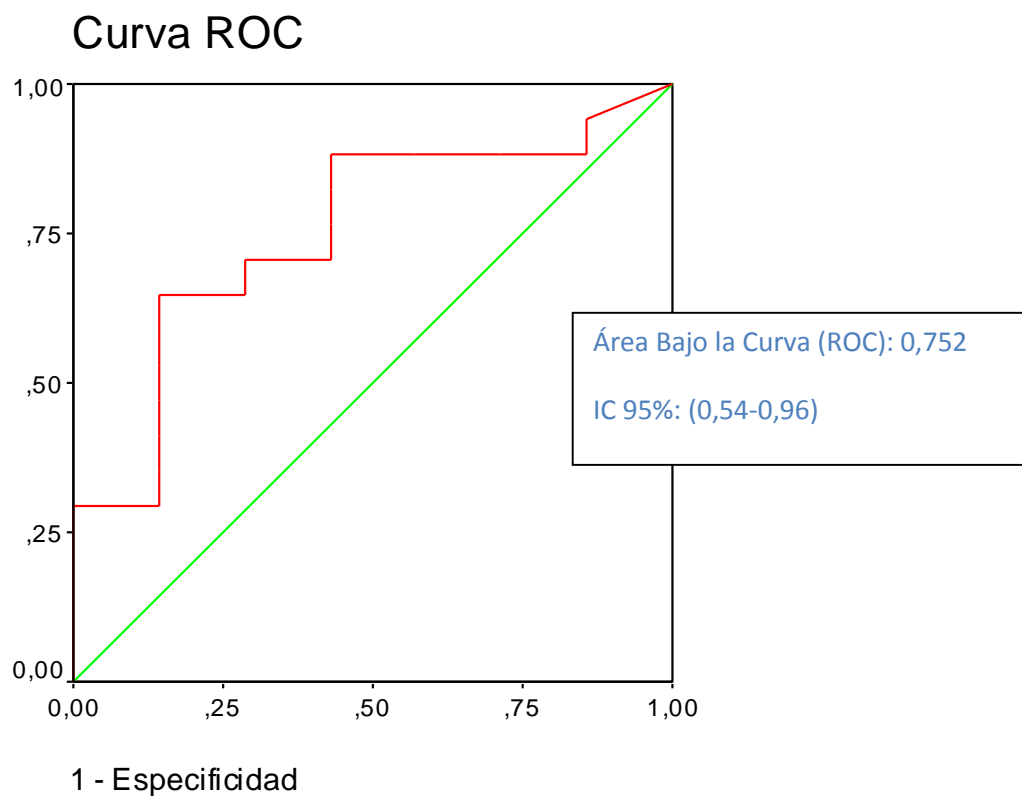


Figura 4.11. Curva ROC para niveles de melatonina a las 12 horas del diagnóstico.

En la siguiente tabla se muestran los diferentes valores de sensibilidad y especificidad para los diferentes puntos de corte de la melatonina.

**Tabla 4.28. Sensibilidad y especificidad
MELATONINA A LAS 12 HORAS DEL DIAGNÓSTICO
(pg/ml).**

Positivo si MAYOR o IGUAL A	SENSIBILIDAD (%)	ESPECIFICIDAD (%)
1	100	0
3,15	94,1	14,3
5,35	88,2	14,3
7,1	88,2	28,6
8,05	88,2	42,9
8,6	88,2	57,1
9,75	82,4	57,1
11,1	76,5	57,1
12,85	70,6	57,1
15,9	70,6	71,4
19,8	64,7	71,4
22,25	64,7	85,7
23,4	58,8	85,7
25,1	52,9	85,7
26,4	47,1	85,7
28,05	41,2	85,7
29,65	35,3	85,7
34,65	29,4	85,7
40,65	29,4	100
46,3	23,5	100
56,6	17,6	100
72,9	11,8	100
89,3	5,9	100
96,4	0	100

Si analizamos en nuestra muestra de pacientes las curvas ROC para la PCR y la PCT al diagnóstico y a las 12 horas encontramos que para la PCR el área bajo la curva es del 73% al diagnóstico y del 87% a las 12 horas del mismo. Para la PCT el área bajo la curva es del 75% al diagnóstico y alcanza el 96% a las 12 horas del diagnóstico.

- Niveles de melatonina en función de la gravedad

En las siguientes tablas se muestra la evolución de los niveles de melatonina a lo largo de la sepsis en función de los dos grupos de clasificación en función de la gravedad.

Tabla 4.29. MELATONINA EN SEPSIS CLINICA O CONFIRMADA NO GRAVE (pg/ml), n=18

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Media	46,64	33,22	27,44	22,45	23,96
Mediana	17,9	25,1	24,7	24	19
Mínimo	1,9	4,3	5,2	8,8	1,9
Máximo	294	95,4	72,3	39,9	60,9
Desviación Estándar	77,76	28,08	18,62	9,91	17,02
Intervalo de Confianza al 95%	3,58-89,71	17,01-49,44	15,61-39,27	16,96-27,94	13,67-34,25
P25	6,9	11,35	13,37	12,4	11,2
P50	17,9	25,1	24,7	24	19
P75	44,8	47,15	37,1	29,8	37,7

Tabla 4.30. MELATONINA EN SEPSIS CLINICA O CONFIRMADA GRAVE (pg/ml), n=6

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Media	13,12	27,53	35,5	14,4	105,67
Mediana	7,05	30	11,9	7,1	57,29
Mínimo	1,9	2	8,6	1,9	16,8
Máximo	36,5	50,6	109,6	34,2	291,3
Desviación Estándar	15,82	24,39	49,47	17,34	129,08
Intervalo de Confianza al 95%	-12-38,30	-33,06-88,13	-43,22-114,22	-28,68-57,48	-99,73-311,07
P25	2,8	2	8,75	1,9	17,32
P50	7,05	30	11,9	7,1	57,29
P75	29,52		85,85		242,4

Si analizamos la evolución de la melatonina en los pacientes con sepsis clínica o confirmada, y hacemos un subgrupo en función de la gravedad, vemos que al diagnóstico la melatonina media es más baja en los pacientes con

sepsis grave. A los 7 días encontramos una melatonina más elevada en la sepsis grave.

En el siguiente gráfico se muestra la evolución de los niveles de melatonina a lo largo de la sepsis en función de los dos grupos de clasificación. Se marcan las melatoninas medias en cada momento, la desviación estándar de la media queda reflejada en las tablas 4.29 y 4.30.

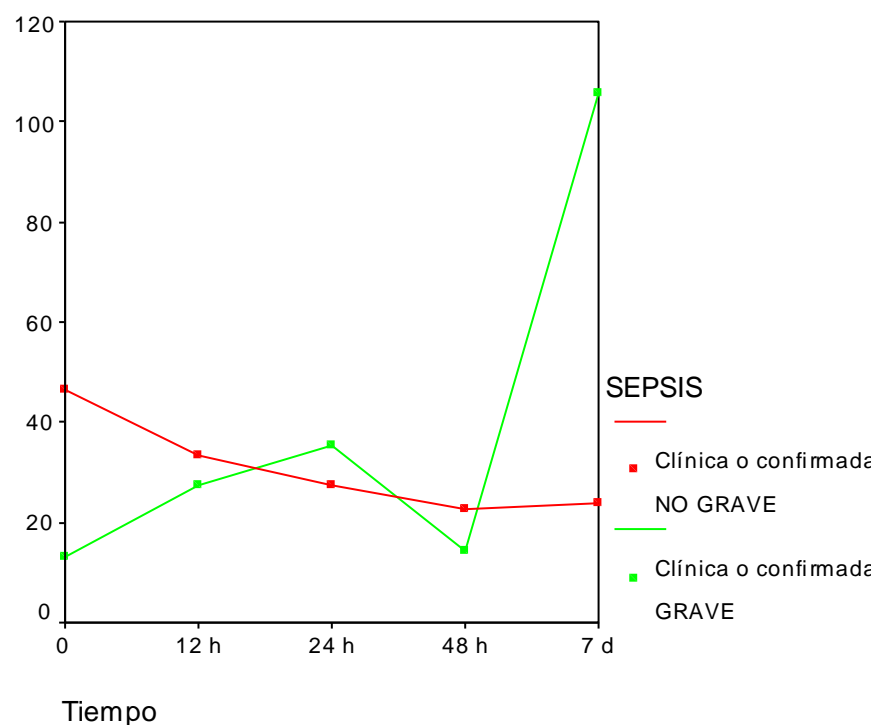


Figura 4.12. Gráfico que muestra la evolución de la melatonina en la sepsis clínica o confirmada no grave y en la sepsis grave. Se marcan las melatoninas medias en cada momento, la desviación estándar de la media queda reflejada en las tablas 4.29 y 4.30.

Vemos que el grupo de sepsis clínica o confirmada grave presenta unos niveles de melatonina más bajos al diagnóstico que los pacientes con sepsis clínica o confirmada no grave. Al diagnóstico de sepsis, los pacientes con sepsis grave tienen una melatonina media de 13,2 pg/ml y los pacientes con

sepsis clínica o confirmada no grave de 46,64 pg/ml. Por el contrario, a los 7 días del diagnóstico, los pacientes con sepsis clínica o confirmada grave tienden a tener niveles de melatonina más elevados, con una media de 105,67 pg/ml, frente a 23,96 pg/ml para los pacientes con sepsis no grave.

Estudiando el perfil evolutivo de la melatonina con *Efectos Mixtos* vemos efecto de interacción ($p=0,005$) lo cual significa que los perfiles de evolución de la melatonina en ambos grupos podrían considerarse diferentes. Al diagnóstico los pacientes con sepsis clínica o confirmada grave presentaron niveles más bajos de melatonina con una diferencia que se acercaría a la significación ($p=0,096$). A los 7 días los pacientes con sepsis clínica o confirmada grave presentaron niveles de melatonina más elevados, encontrando aquí una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,001$).

Como análisis de sensibilidad para estos resultados se compararon las medias en cada momento utilizando la *U de Mann-Whitney*. Realizando en análisis estadístico de comparación de medias para muestras no paramétricas mediante la U de Mann-Whitney vemos que no se encuentran diferencias estadísticamente significativas. En la tabla 4.31 se muestra la comparación de melatonina media al diagnóstico y a los 7 días del diagnóstico, en sepsis clínica o confirmada no grave frente a sepsis clínica o confirmada grave.

Tabla 4.31. COMPARACIÓN DE MEDIAS (U de Mann-Whitney) en sepsis clínica o confirmada no grave frente a sepsis clínica o confirmada grave.

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Melatonina en Sepsis NO Grave (pg/ml)	46,64	33,22	27,44	22,45	23,96
Melatonina en Sepsis Grave (pg/ml)	13,12	27,53	35,5	14,4	105,67
p valor	0,185				0,202

- Niveles de melatonina y exitus

Fallecieron únicamente tres pacientes, uno a las 12 horas, otro a las 36 horas y otro a los 7 días del diagnóstico. A continuación se muestran los niveles de melatonina de los pacientes que fallecieron.

Tabla 4.32. NIVELES DE MELATONINA EN LOS PACIENTES FALLECIDOS (pg/ml), n=3

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Caso 2	<2	<i>Exitus</i>			
Caso 12	6,5	8,3	16,1	12,9	27,5 <i>Exitus</i>
Caso 24	36,5	50,6	109,6	<i>Exitus</i>	

Si analizamos la melatonina media al diagnóstico de los pacientes que fallecieron frente al resto de los pacientes vemos que los que fallecieron presentaban una melatonina media más baja, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 4.33. MELATONINA AL DIAGNÓSTICO (pg/ml) en los pacientes fallecidos y en los no fallecidos

	EXITUS (n=3)	NO EXITUS (n=29)
Media	14,96	37,2
Mediana	6,5	17,3
Mínimo	1,9	1,7
Máximo	36,5	294
Desviación Estándar	18,79	65,72
Intervalo de Confianza al 95%	-31,71-61,64	8,05-66,34
P25	1,9	6,47
P50	6,5	17,3
P75		35,35

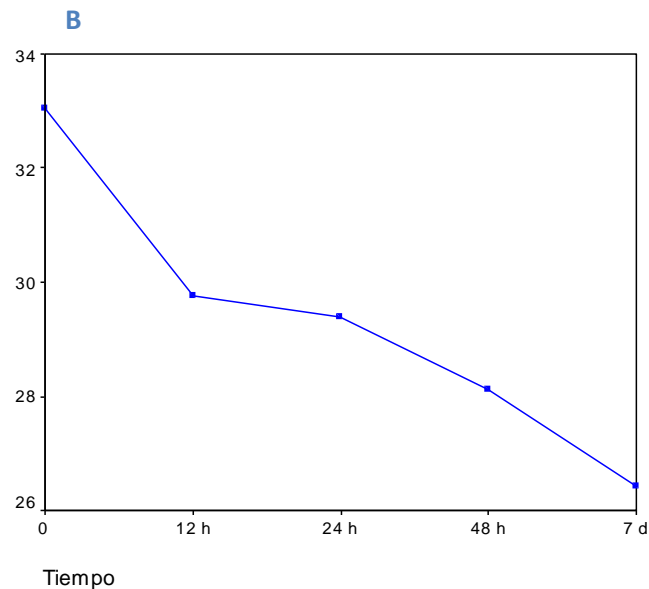
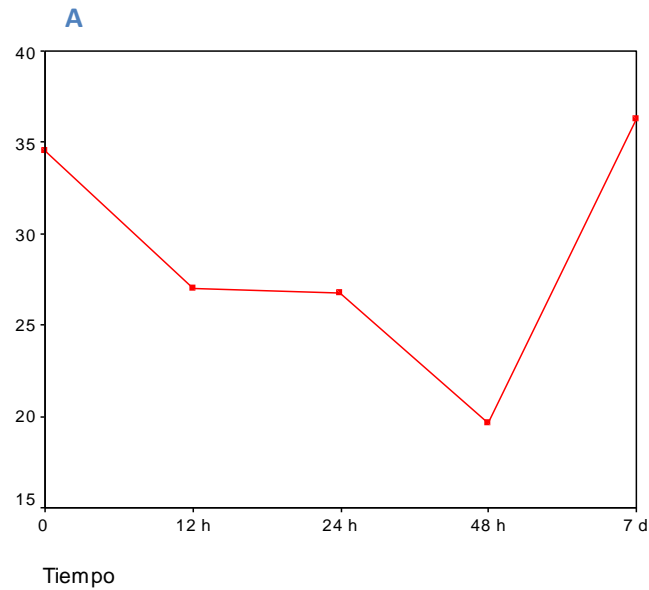
4.5. CORRELACIÓN DE LOS NIVELES DE MELATONINA CON OTRAS VARIABLES

La asociación entre melatonina y diferentes variables clínicas y analíticas, a lo largo del tiempo de observación, se ha estudiado utilizando modelos de regresión de efectos mixtos para controlar el efecto de las medidas repetidas en un mismo sujeto (no independencia de las observaciones). Estos modelos se utilizan para controlar el efecto de las medidas repetidas no independientes (Sheck DT 2011).

Como variable dependiente se ha considerado la melatonina a lo largo del tiempo y como variable explicativa los valores de las diferentes variables analíticas y clínicas en los mismos momentos.

- Niveles de melatonina y FiO_2

En los siguientes gráficos vemos la evolución de los niveles de melatonina y de la FiO_2 en nuestra muestra de pacientes.



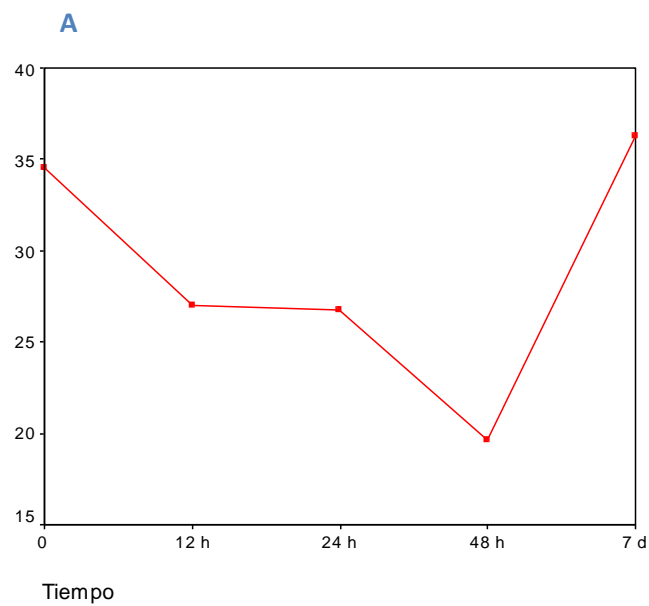
Figuras 4.13 y 4.14. Gráficos que muestran la evolución de la melatonina (A) y de la FiO₂ (B) en la sepsis neonatal.

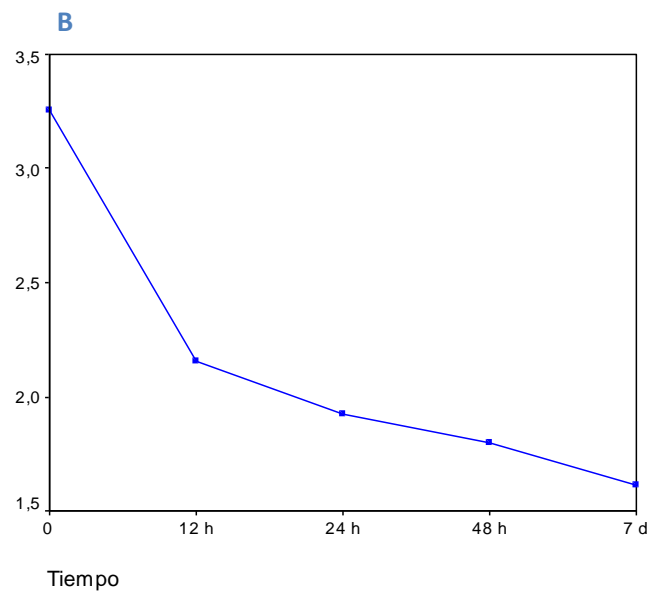
Si analizamos la evolución de la FiO₂ y la evolución de la melatonina a lo largo del tiempo en nuestra muestra vemos que ambas siguen un descenso progresivo a lo largo del tiempo. Para analizar si existe relación entre ambas variables hemos utilizado el modelo de regresión lineal con efectos mixtos, para controlar el efecto de las medidas repetidas dentro de un mismo sujeto.

Existe una relación positiva entre ambas variables estadísticamente significativa ($p= 0.035$), pudiendo afirmar que a mayor FiO_2 mayor melatonina. El coeficiente de regresión es de 0.3, es decir, por cada unidad de aumento en la FiO_2 aumenta la melatonina 0.3.

- Niveles de melatonina y Acido Láctico

En los siguientes gráficos vemos la evolución de los niveles de melatonina y del ácido láctico.





Figuras 4.15 y 4.16. Gráficos que muestran la evolución de la melatonina (A) y del ácido láctico (B) en la sepsis neonatal.

Si analizamos la evolución del ácido láctico y la evolución de la melatonina a lo largo del tiempo en nuestra muestra vemos que ambas siguen un descenso progresivo. Para analizar si existe relación entre ambas variables hemos utilizado el modelo de regresión lineal con efectos mixtos.

Existe una relación positiva entre ambas variables estadísticamente significativa ($p= 0.029$), pudiendo afirmar que a mayor ácido láctico mayor melatonina. El coeficiente de regresión es de 3.42, es decir, por cada unidad de aumento en el ácido láctico se produce un aumento de la melatonina de 3.42.

- Niveles de melatonina y otras variables.

No se encontró asociación entre la melatonina y pH, melatonina y PCR, melatonina y PCT, melatonina y leucocitos o melatonina y neutrófilos.

5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

5.1. CONSIDERACIONES DEL DISEÑO DEL ESTUDIO

En primer lugar debemos hacer referencia a la enorme dificultad que ha supuesto para el diseño del estudio la ausencia de una definición consensuada para la sepsis neonatal. En la actualidad no existe un consenso internacional para definir la sepsis neonatal existiendo una gran disparidad en los criterios empleados en diferentes estudios de investigación (Reyna-Figueroa J 2006) (Oeser C 2013). Ello se debe en parte a que tanto los signos clínicos de sepsis como los hallazgos de laboratorio son muy inespecíficos, lo que hace que sean indistinguibles de otras patologías de etiología no infecciosa, que pueden a su vez simular una sepsis neonatal.

En España, el Grupo de Hospitales Castrillo llegó, en 1995, a un consenso definiendo *Sepsis Confirmada* a aquella con hemocultivo positivo junto al menos un signo clínico de infección (distrés respiratorio, taquipnea, fiebre, taquicardia, apnea, cianosis, hipotermia, ictericia, hepatomegalia, anorexia, regurgitación, letargia, irritabilidad, vómitos, diarrea, temblores, contracciones musculares, petequias, púrpura y distensión abdominal) y al menos una alteración de laboratorio compatible con infección (PCR >12 mg/L, leucopenia <5.000/mm³, leucocitosis >15.000/mm³, ratio neutrófilos inmaduros leucocitos totales >0.2, ratio neutrófilos inmaduros neutrófilos totales >0.16). Asimismo definieron *Sepsis Clínica* como aquella con hemocultivo negativo en presencia de signos clínicos y analíticos de infección, *Bacteriemia Asintomática* como ausencia de datos clínicos y analíticos de infección con hemocultivo positivo y *Ausencia de Infección* en el caso de ausencia de signos clínicos o analíticos de infección y hemocultivo negativo (C. C. López Sastre JB 2000).

En el año 2002, en una conferencia de consenso internacional (San Antonio, Estados Unidos), con el auspicio del American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine, se adaptaron los criterios de

síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y sepsis a la edad pediátrica, teniendo en cuenta las peculiaridades fisiológicas de los niños. El documento final se publicó en el año 2005 y definía el SIRS con los mismos criterios clínicos y de laboratorio que en los adultos pero proporcionando valores de normalidad específicos para cada grupo de edad (Goldstein B 2005). Se cambiaron por tanto las variables clínicas utilizadas para definir SRIS en función de la edad, estableciendo 6 grupos de edad. Pero este consenso excluye a los recién nacidos prematuros, dado que su atención tiene lugar en unidades de cuidados intensivos neonatales y la conferencia se discutió desde la perspectiva de unidades pediátricas. Según este consenso podríamos definir la sepsis neonatal como un síndrome clínico (SIRS) en un niño menor o igual a 1 mes de vida, caracterizado por unos signos clínicos y analíticos de infección con o sin el aislamiento de una bacteria patógena en el hemocultivo (Tabla 3.2) (Goldstein B 2005). Este modelo de definición, que parece excelente para la edad pediátrica, tiene sin embargo muchas limitaciones en el neonato, tal como se objetivó en un estudio reciente (Z. E. Hofer N 2012). Por tanto, no nos pareció apropiado utilizar esta definición para este estudio.

El 8 de Junio de 2010 tuvo lugar en Londres, una reunión de expertos sobre sepsis neonatal y pediátrica organizada por la *European Medicine Agency* (EMA). En esta reunión se intentaron establecer criterios para la realización de ensayos clínicos en neonatos y niños con sepsis, dada la ausencia de consenso existente hasta ese momento. Para la sepsis pediátrica se estableció la definición de la Conferencia de consenso Internacional sobre sepsis pediátrica (Goldstein B 2005), no así para la sepsis neonatal. Considerando la población neonatal hasta las 44 semanas de edad gestacional corregida, definieron la sepsis neonatal como la presencia de al menos dos síntomas clínicos y al menos dos signos de laboratorio en presencia o como resultado de una infección sospechada o probada (Tabla 3.1) (European Medicines Agency 2010).

Aunque estos parámetros requieren todavía validación clínica, en la actualidad se están utilizando estos criterios en un gran ensayo clínico europeo (www.neomero.org) (Lutsar I 2011). Por su sencillez y conceptos claros y precisos decidimos utilizar esta definición para nuestro estudio.

Por tanto, no existe en la actualidad ninguna definición o score de sepsis neonatal que haya sido validada, por ello la elección de la más adecuada a la hora de decidir unos criterios de inclusión para un estudio resulta especialmente difícil.

Por otro lado, de todos es sabido la dificultad para el diagnóstico de la sepsis neonatal, cuyos síntomas, signos y hallazgos de laboratorio son tan inespecíficos que en ocasiones resultan indistinguibles de otras patologías no infecciosas. Sin embargo, esta entidad es una patología grave, cuyo curso clínico puede ser rápido y dar como resultado la muerte del recién nacido o dejar secuelas significativas, constituyendo una importante causa de morbilidad y mortalidad, especialmente en el recién nacido pretérmino. La dificultad para el diagnóstico junto con la necesidad de instaurar un tratamiento precoz conlleva a que se traten un gran número de recién nacidos en los que nunca se llegará a confirmar la infección porque el hemocultivo será negativo, bien por un falso negativo (bajos niveles de bacteriemia, volúmenes escasos de sangre para el hemocultivo) o bien porque posiblemente no existiera una infección. En un estudio realizado en Estados Unidos sólo el 2.2% de los recién nacidos que fueron evaluados por posible infección bacteriana cumplió finalmente criterios de infección posible, probable o probada (Escobar GJ 2000).

Todo ello lleva a que la “Sospecha de Sepsis” sea uno de los diagnósticos más frecuentes en la unidad neonatal. Y que, en muchas ocasiones, en presencia de clínica, se inicie tratamiento empírico, existan o no signos analíticos de infección, que en ocasiones pueden ser más tardíos. Es por ello, por lo que en nuestro estudio, el criterio de inclusión fue la “Sospecha

de Sepsis” y es a posteriori cuando se realizó la clasificación en función de la definición de sepsis neonatal elegida para este trabajo.

Tras la inclusión en el estudio y una vez confirmados los resultados de los cultivos, se clasificó a los pacientes en 3 grupos diferentes: *Sepsis Confirmada* (Aquellos pacientes con hemocultivo positivo que cumplieran al menos dos criterios clínicos y dos criterios analíticos de sepsis neonatal); *Sepsis Clínica* (Aquellos pacientes con hemocultivo negativo que cumplieran al menos dos criterios clínicos y dos criterios analíticos de sepsis neonatal); *Sepsis Poco Probable* (Aquellos pacientes con hemocultivo negativo que cumplieran al menos dos signos clínicos de infección pero sin cumplir al menos dos criterios analíticos de sepsis neonatal).

Para definir shock séptico y fracaso multiorgánico, dada la ausencia de otros criterios claros para la población neonatal, se utilizaron las definiciones establecidas en el consenso internacional de sepsis pediátrica (Goldstein B 2005), que aunque sí están establecidos para el neonato, no tienen en cuenta al recién nacido pretérmino.

Otra cuestión importante a la hora del diseño es haber medido niveles séricos de melatonina y no haber medido 6- sulfatoximelatonina en orina, principal metabolito de la melatonina, como en algunos estudios. Aunque esta medición de niveles en sangre puede resultar más invasiva, la determinación en orina, con los problemas derivados de su recogida, nos pareció inviable. Hubiera supuesto poner bolsas de recogida de orina, que se despegan con facilidad, y que además, dañan la piel del recién nacido, especialmente del pretérmino. Por otra parte la excreción de 6- sulfatoximelatonina depende del metabolismo hepático, todavía inmaduro en el neonato.

Por último, no se ha tenido en cuenta la hora del día de determinación de melatonina, debido a que, aunque su secreción presenta un ritmo circadiano, este no se encuentra presente en el neonato. Se ha observado que

el patrón circadiano de secreción de melatonina aparece entre los 2 y los 4 meses de vida estando retrasado en el recién nacido pretérmino (S. G. Kennaway DJ 1992) (G. F. Kennaway DJ 1996) (Ardura J 2003).

5.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES

5.2.1. CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS PERINATALES

En el periodo comprendido entre Octubre de 2011 y Mayo de 2013, 32 recién nacidos con sospecha de sepsis ingresados en la Unidad Neonatal cumplieron los criterios de inclusión en el estudio.

De los 32 recién nacidos incluidos prácticamente la mitad fueron recién nacidos a término y la otra mitad recién nacidos pretérmino, 15 y 17, respectivamente. En cuanto a la distribución según peso, en nuestra muestra 9 recién nacidos eran menores a 1.500 g.

En cuanto al sexo, encontramos el doble de varones que de mujeres, 22 niños (un 68.75%) frente a 10 niñas. En muchos estudios se ha objetivado que los varones presentan una incidencia más elevada de sepsis que las mujeres (Washburn TC 1965). Existe fuerte evidencia en la bibliografía de que las mujeres poseen una respuesta inmune superior a los varones frente a los patógenos (Bouman A 2005) (Marriott I 2006) (Zandman-Goddard G 2007) (Beagley KW 2003). Se cree que esta respuesta, que resultaría beneficiosa para enfrentarse a infecciones virales o bacterianas, sería la causante de una mayor susceptibilidad a padecer enfermedades autoinmunes objetivada en las mujeres. La base inmunológica de esta diferencia no se encuentra bien establecida, existiendo numerosas hipótesis al respecto que incluyen el efecto directo de los esteroides sexuales (Robinson DP 2011), el efecto dosis dependiente de genes ligados al cromosoma X (Carrel L 2005), el impacto de

determinados genes del cromosoma Y o el microquimerismo fetal (Gleicher N1 2007).

En cuanto al tipo de parto llama la atención el porcentaje de cesáreas, un 53.13%, frente al 46.88% de partos vaginales. De las cesáreas, 11 fueron realizadas en RNPT y 6 en RNT, un 64.7% frente al 35%. Se ha demostrado que el parto mediante cesárea aumenta la supervivencia en los menores de 25 semanas de edad gestacional, no así en los mayores (Malloy MH 2008). En nuestra muestra de las 11 cesáreas que se realizaron en RNPT, 5 presentaban una edad gestacional comprendida entre las 24 y 26 semanas.

El tiempo de bolsa rota en la mayoría de nuestros pacientes fue inferior a 18 horas. Se define la rotura prematura de membranas como la pérdida de líquido amniótico por vagina antes del inicio del parto con o sin signos de infección. Esta indicada la profilaxis antibiótica a partir de las 12 horas de bolsa rota hasta la finalización de la gestación (García- Marques E 2008). Debido a la fuerte asociación con corioamnionitis, siendo esta el factor de riesgo más importante de sepsis neonatal, la rotura prematura de membranas constituye un factor de riesgo bien establecido para la sepsis neonatal (Schuchat A1 2000) (Martius JA 1999). Únicamente 6 pacientes presentaban bolsa rota prolongada, es decir, mayor o igual a 18 horas. En 4 pacientes el tiempo de bolsa rota era desconocido, uno menor de 12 horas sin poder precisar con exactitud y otros 2 habían nacido en otro centro y no aportaban informe.

La maduración pulmonar fetal, mediante la administración de corticoides a la madre antes del parto, se inició en la década de los 80 y actualmente esta actuación se realiza de forma protocolizada ante una amenaza de parto pretérmino por debajo de las 34 semanas de edad gestacional (García-Marqués E 2008). Por encima de esta edad se considera que ya existe una maduración pulmonar fetal. La inducción farmacológica de la madurez pulmonar fetal con corticoides es la intervención que más ha cambiado el pronóstico de los prematuros (Riley CA 2011), ya que no solo reducen la

mortalidad neonatal y maduran el pulmón, sino también el aparato digestivo (menor tasa de enterocolitis necrotizante), cardiovascular (mejor estabilidad hemodinámica), neurológico (menor tasa de hemorragia intraventricular) y renal (menor pérdida salina). En nuestra muestra, se administraron en 10 pacientes, todos ellos RNPT. En los 7 RNPT que no se administraron, solo 3 eran menores de 34 semanas de edad gestacional, en uno de ellos se practicó una cesárea urgente por sospecha de rotura uterina, otro presentaba a su llegada a urgencias prolapso de pie en vagina por lo que también se realizó cesárea urgente, el tercero presentó parto infrenable sin dar tiempo a maduración pulmonar. Por tanto se administraron en el 77% de los RNPT en los que estaban indicados.

Se estima que el 10% de los todos los recién nacidos requiere algún tipo de reanimación en la sala de partos y este porcentaje aumenta hasta el 80% en los recién nacidos pretérmino (American Heart Association 2010). En nuestro estudio todos los pacientes requirieron algún tipo de reanimación. La mayoría de los recién nacidos a término recibieron una reanimación superficial. De los recién nacidos pretérmino, 10 niños (el 58.82%) requirieron una reanimación tipo IV (REA Tipo IV) y ninguno precisó una reanimación tipo V. De los recién nacidos pretérmino, 8 eran menores de 30 semanas y 9 de peso inferior a 1.500 g, lo que podría justificar que la mayoría precisará intubación endotraqueal en paritorio.

Con respecto a la edad al diagnóstico de sepsis, 19 pacientes eran de edad inferior a 7 días de vida en el momento del diagnóstico y 13 mayores a una semana de vida. Por tanto en nuestra muestra existe un mayor representación de pacientes con sepsis precoz. La epidemiología de la sepsis precoz esta siendo estudiada en nuestro país por el Grupo de Hospitales Castrillo desde el año 1996 incluyendo en la actualidad un registro de más de 800.000 recién nacidos. A lo largo de estos años se ha encontrado un descenso de la incidencia global pasando del 2.4 por cada 1000 recién nacidos vivos en el año 1996 al 0.34 por cada 1000 recién nacidos vivos en el año 2006

(F. C. López Sastre JB 2005). Las cifras son similares a las de otros países desarrollados como Estados Unidos en los que la incidencia global de la sepsis neonatal precoz se estima en 1 a 5 casos por cada 1000 recién nacidos vivos, siendo menor en recién nacidos a término, de 1 a 2 casos por cada 1000 recién nacidos vivos (H. N. Stoll BJ 2011, H. N. Stoll BJ 2011). La incidencia presenta variaciones significativas en función del peso al nacimiento, siendo más elevada en neonatos con peso inferior a 1500 g, que en los de peso superior (15,1‰ vs 0,84‰ en el año 2006 en el “Grupo de Hospitales Castrillo”).

Los estudios del Grupo de Hospitales Castrillo sitúan en España la incidencia de sepsis de transmisión nosocomial en 2.1% de los ingresos en unidades neonatales (C. C. López Sastre JB 2002). La sepsis tardía es más frecuente en el recién nacido pretérmino, especialmente en el de bajo peso. Estudios del NICHD Neonatal Research Network, en Estados Unidos, muestran que aproximadamente el 21% de los recién nacidos pretérmino de peso menor a 1.500 g desarrollaran 1 o más episodios de sepsis tardía confirmada, con hemocultivo positivo, siendo esta incidencia inversamente proporcional a la edad gestacional (58% a las 22 semanas y 20% a las 28 semanas de edad gestacional) (H. N. Stoll BJ 2002) (H. N. Stoll BJ 2010). En nuestra muestra de los 13 pacientes con sepsis tardía, 8 eran prematuros, 7 de ellos de peso inferior a 1.500 g.

5.2.2. CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS EN RELACIÓN CON LA INFECCIÓN

De los 32 pacientes, 8 se clasificaron como *sepsis poco probable* (25%), 17 como *sepsis clínica* (53.13%) y únicamente 7 como *sepsis confirmada* (21.88%). Como he comentado previamente, la necesidad de instaurar un tratamiento precoz conlleva que se inicie tratamiento empírico en muchos recién nacidos en los que nunca se llegará a confirmar la infección. De todos

estos, un porcentaje no despreciable no presentaba infección (Escobar GJ 2000), y en otros se habrá producido un falso negativo del hemocultivo.

Aunque el hemocultivo es el *gold standard* para el diagnóstico de la sepsis neonatal, la tasa de positividad es baja y se ve influida por factores como la administración intraparto de antibióticos y las limitaciones en cuanto al volumen de sangre para hemocultivo que puede obtenerse en el neonato (Jawaheer G 1997) (Neal PR 1986). El número de unidades formadoras de colonias (UFC) es un factor muy importante. En aproximadamente el 25% de los neonatos con sepsis bacteriana el recuento de UFC de la bacteria en sangre es menor a 5 UFC/ml (Dietzman DE 1974). Ello hace que el volumen de sangre que se precisa para detectar bacteriemia sea crítico. Idealmente, debería obtenerse al menos 1 ml de sangre para hemocultivo lo que aumenta mucho la rentabilidad del hemocultivo (C. M. Schelonka RL 1996). Sin embargo, esto no siempre es posible, sobre todo en recién nacidos de muy bajo peso. En nuestra muestra 17 pacientes eran prematuros y 9 de ellos de peso menor o igual a 1.500 g. Aunque en estas circunstancias, la extracción de sangre a través de un catéter arterial permanente sería una alternativa aceptable (Cowett RM 1976), al igual que el hemocultivo recogido de sangre de cordón umbilical al nacimiento (Polin JI 1981), en nuestro estudio siempre se recogió hemocultivo periférico.

De los 7 pacientes con hemocultivo positivo, en 3 de ellos se aisló *un E. Coli*, en los otros los germenos aislados fueron *Enterococo faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus epidermidis*. El *E. Coli* produce infecciones severas y meningitis y se ha convertido en la principal causa de mortalidad relacionada con sepsis en los recién nacidos pretérmino de muy bajo peso (24.5%) (Weston EJ 2011). Juntos, EGB y *E. Coli* representan aproximadamente el 70% de los casos de sepsis precoz en el periodo neonatal (Bizzarro MJ 2005) (Vergnano S 2001) (F. C. López Sastre JB 2005).

Aunque lo ideal es suspender la antibioterapia de forma precoz, una vez iniciada, todos los recién nacidos recibieron un curso completo de tratamiento. Ello se debe a que en nuestro centro se recibe el resultado del hemocultivo pasados un mínimo de 5 días desde su extracción, lo cual hace imposible esta actuación en los pacientes con sepsis poco probable, que se podrían haber beneficiado de una suspensión precoz de la antibioterapia. En cualquier caso, si la sospecha de sepsis es elevada, especialmente si existen síntomas, debe considerarse completar un curso completo de tratamiento, independientemente de la negatividad del hemocultivo (Ferrieri P 2012).

Un total de 6 pacientes cumplieron criterios de sepsis grave en algún momento de la evolución, es decir, presentaron shock séptico y/o fracaso multiorgánico. Al diagnóstico 6 pacientes cumplían criterios de shock séptico con necesidad de drogas vasoactivas, 3 de ellos además presentaban fracaso multiorgánico.

Los pacientes con sepsis poco probable por definición no presentaron alteraciones analíticas. Los pacientes con sepsis confirmada presentaron una cifra más elevada de leucocitos y de neutrófilos que los pacientes con sepsis clínica. En cuanto a los reactantes de fase aguda, los pacientes con sepsis confirmada presentaron una cifra de PCR más elevada que los pacientes con sepsis clínica, no así de PCT. Llama la atención que los pacientes con sepsis clínica tuvieron niveles de PCT más elevados que los pacientes con sepsis confirmada. Ello podría explicarse si tenemos en cuenta que de los 6 pacientes con sepsis grave, 5 estaban en el grupo de sepsis clínica. Es bien sabido que la PCT refleja bien la progresión de una infección local o solo sepsis (sepsis sin disfunción multiorgánica) a sepsis grave y shock séptico y así queda reflejado en numerosos estudios (Al-Nawas B 1996) (Ugarte H 1999) (Suprin E 2000) (Harbarth S 2001). La progresión de la sepsis a sepsis grave está caracterizada por un incremento marcado de la PCT. Cuando se determina la progresión de una infección hacia una sepsis, sepsis grave o shock séptico, la PCT es superior a muchos otros biomarcadores y en particular la PCR (Uzzan B 2006).

Existen numerosos estudios en la literatura sobre la utilidad de la PCT en la sepsis neonatal, y la mayoría han llegado a la conclusión que la PCT es superior a la PCR para el diagnóstico precoz de la sepsis neonatal (Lam HS 2008).

Un total de tres pacientes fallecieron, todos ellos RNPT. Un paciente (Caso 2) falleció a las 12 horas del diagnóstico confirmandose posteriormente una sepsis precoz por E. Coli. La sepsis por E. Coli ha aumentado en los últimos años y afecta principalmente a recién nacidos prematuros por debajo de 2.500 g de peso al nacimiento, siendo la causa más comun de sepsis precoz en este grupo (Weston EJ 2011). El segundo fallecido (Caso 12) presentaba una enterocolitis necrotizante grado III que se diagnosticó a los 7 días de vida, falleciendo a los 7 días del diagnóstico. El tercero (caso 24) era un prematuro extremo que falleció a los 6 días de vida, a las 36 horas del diagnóstico.

5.3. NIVELES DE MELATONINA EN LA SEPSIS NEONATAL

La melatonina (aMT) o N-acetil-5-metoxi-triptamina es una hormona producida principalmente en la glándula pineal a partir del triptófano y secretada a la sangre y líquido cefalorraquídeo. Su secreción tiene un ritmo circadiano, sincronizada con el fotoperiodo, alcanzando máximos niveles nocturnos y mínimos diurnos, iniciándose esta vía de regulación en la retina (Reiter RJ, Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions 1991).

Durante la vida intrauterina, el feto recibe la melatonina de la madre. (Okatani Y 1998). A través de la placenta la melatonina llega a todos los tejidos del feto y por tanto la melatonina materna conduce a los ritmos circadianos fetales. Tras el nacimiento, no existe un ritmo circadiano de secreción de melatonina, que aparece entre los 2 y los 4 meses de vida estando retrasado

en el recién nacido pretérmino (S. G. Kennaway DJ 1992) (G. F. Kennaway DJ 1996) (Ardura J 2003). La secreción de melatonina es baja al nacimiento y se incrementa significativamente en el periodo neonatal precoz (primeras 72 horas de vida), esto se cree que es debido a la inmadurez hepática fisiológica con menor tasa de metabolización (Molina Carballo A 1996).

La melatonina es una hormona con gran diversidad funcional. Posee numerosas funciones, bien conocidas son su relación con el sistema neuroendocrino- reproductor y la regulación de los ritmos biológicos, así como su función antioxidante. Además existe evidencia sobre su implicación en otras funciones como por ejemplo antiinflamatoria, potenciadora del sistema inmune, inhibidora de la progresión tumoral, analgésica, moduladora mitocondrial, etc.

El recién nacido y en especial el recién nacido pretérmino son extremadamente susceptibles al estrés oxidativo (R. R. Gitto E 2002). Entre las diferentes razones que llevan a ello se encuentra la mayor probabilidad de padecer infecciones por un sistema de defensa todavía inmaduro. La sepsis supone un serio problema en el recién nacido. Numerosos estudios clínicos demuestran la implicación de los radicales libres de oxígeno y de nitrógeno en la sepsis neonatal y sus complicaciones (Batra S 2000) (Seema 1999) (Kurt AN 2007).

El comportamiento de la melatonina en el recién nacido con sepsis es desconocido con ausencia de estudios al respecto.

Los resultados de nuestro trabajo sobre la evolución de los niveles de melatonina en la sepsis neonatal quedan reflejados en la siguiente gráfica (Figura 5.1).

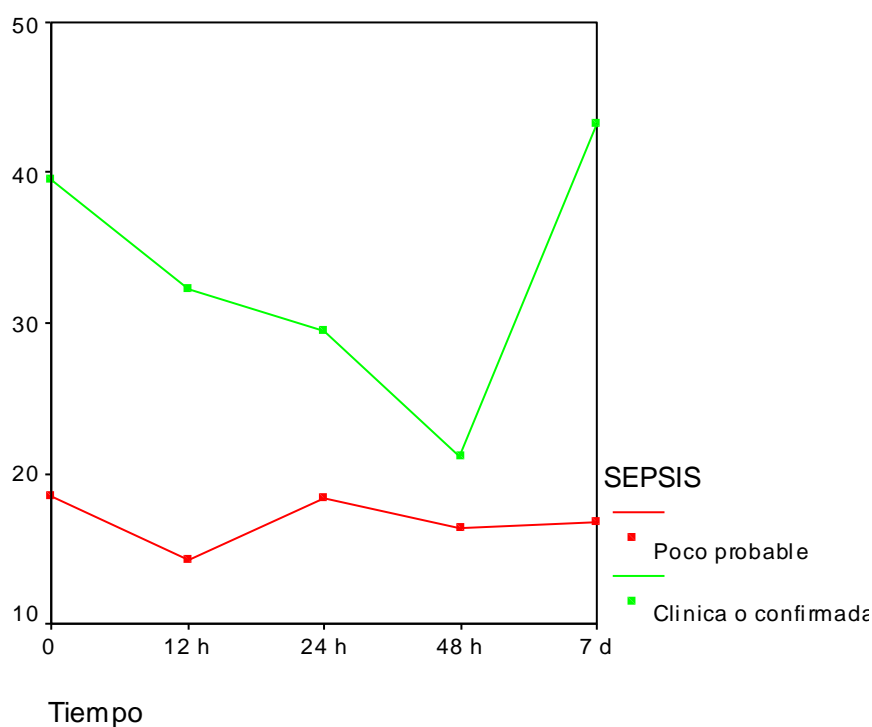


Figura 5.1. Gráfico de la evolución de la melatonina en la sepsis poco probable y en la sepsis clínica o confirmada. Se marcan las melatoninas medias en cada momento, la desviación estándar de la media queda reflejada en las tablas 4.25 y 4.26.

Para el análisis de los niveles de melatonina se consideró a los pacientes con sepsis clínica y a los pacientes con sepsis confirmada dentro de un mismo grupo, ya que dada la baja rentabilidad del hemocultivo en neonatología en la mayoría de los pacientes nunca se confirmará la sepsis. A efectos de la práctica clínica estos pacientes constituyen un mismo grupo.

Estudiando el perfil evolutivo de la melatonina con *Efectos Mixtos* no se detecta efecto de la interacción ($p=0,576$) lo cual significa que los perfiles de evolución de la melatonina irían de forma paralela. No obstante, el grupo de sepsis clínica o confirmada presentó valores que tendían a ser mayores que los del grupo de sepsis poco probable ($p=0.077$), siendo el momento de las 12 horas del diagnóstico donde encontramos una diferencia más próxima a la significación ($p=0,11$).

Como análisis de sensibilidad para estos resultados se compararon las medias en cada momento utilizando la *U de Mann-Whitney* obteniendo resultados similares. Como se reflrja en la tabla 5.1, vemos que solo existe una diferencia que se acerca a la significación a las 12 horas del diagnóstico con una $p < 0.05$.

Tabla 5.1. COMPARACIÓN DE MEDIAS (U de Mann- Witney).

Comparación de melatonina media al diagnóstico, a las 12 horas, a las 24 horas, a las 48 horas y a los 7 días del diagnóstico, en sepsis poco probable frente a sepsis clínica o confirmada.

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Melatonina Sepsis Poco Probable (pg/ml)	18,51	14,25	18,28	16,31	16,75
Melatonina Sepsis Clínica o Confirmada (pg/ml)	39,58	32,22	29,45	21,11	43,18
p valor	0,555	0,055	0,445	0,397	0,227

En el grupo de sepsis poco probable los niveles de melatonina se mantienen más o menos estables a lo largo de la evolución. El grupo de sepsis clínica o confirmada parte de unos niveles de melatonina más elevados, tendiendo ésta a descender de forma progresiva durante las primeras 48 horas para recuperar a la semana del diagnóstico los niveles de partida.

Como hemos reiterado a lo largo de este trabajo, el recién nacido y en especial el recién nacido pretérmino son especialmente susceptibles al estrés oxidativo (R. R. Gitto E 2002) y la sepsis va a suponer un serio problema. En la sepsis se producen una serie de acontecimientos concatenados cuyo evento iniciador es la liberación de endotoxinas bacterianas, como por ejemplo los lipopolisacáridos (LPS) de la pared celular de patógenos Gram positivos y negativos (P. S. Gitto E 2009). Los LPS desencadenan la activación de células inflamatorias, incluyendo los leucocitos polimorfonucleares (PMN), monocitos /macrófagos y linfocitos. Los LPS también inician otros aspectos de la respuesta inflamatoria inmune, tanto humoral como celular. La respuesta

inflamatoria que ocurre como consecuencia de una infección es el determinante principal de las consecuencias de la sepsis (Abraham E 2007). Una de las principales características de la sepsis es la infiltración de los tejidos por células fagocíticas. Cuando esto ocurre, los PMN y los monocitos/macrófagos responden a esta estimulación produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS, por reactive oxygen species) y especies reactivas de nitrógeno (RNS, por reactive nitrogen species). Además, los PMN liberan enzimas (elastasa, catepsina, etc.) y ácido hipocloroso (HCIO). Este último es uno de los más poderosos oxidantes y el radical libre más dañino producido por los neutrófilos con una potente acción bactericida. Todo ello contribuye a la defensa contra los patógenos, sin embargo, si se producen en exceso, los ROS/RNS junto con las enzimas proteolíticas producen disfunción microvascular y daño de los diferentes órganos. Es crucial que exista un equilibrio en la respuesta inflamatoria al estímulo séptico, entre los mediadores pro y anti-inflamatorios y oxidantes y antioxidantes, para la correcta defensa del huésped.

Numerosos estudios clínicos demuestran la implicación de los ROS y RNS en la sepsis neonatal. Batra y colaboradores sugirieron el aumento de especies reactivas de oxígeno en neonatos sépticos dado el aumento de enzimas oxidantes en estos pacientes, que por el contrario, tenían disminuida la actividad de enzimas antioxidantes (Batra S 2000). Igualmente, Seema et al. demostraron que los neonatos con sepsis presentaban niveles significativamente más elevados de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y mayor actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) (Seema 1999). Kurt et al. objetivaron que los mediadores inflamatorios interleuquina 1 β (IL-1 β), interleuquina 6 (IL-6), interleuquina 8 (IL-8) y TNF- α podían ser utilizados en el diagnóstico y evaluación de la respuesta al tratamiento de la sepsis neonatal (Kurt AN 2007).

La explicación a que los pacientes con sepsis clínica o confirmada partan de unos niveles más elevados de melatonina podría estar en relación a la respuesta de la glándula pineal ante el estrés y en especial ante el estrés

oxidativo. La glándula pineal se estimularía en respuesta a la inflamación y al estrés oxidativo generados por la infección, como un mecanismo de defensa antioxidante, intentando contrarrestar estos. El equipo de Muñoz- Hoyos estudió a 112 recién nacidos observando que el grupo con distrés respiratorio inmediato presentaba unos niveles de melatonina más elevados lo que sugeriría que el estrés neonatal actuaría aumentando la secreción de melatonina (R.-C. T.-C.-S.-C.-C. Muñoz-Hoyos A 1992). En otro estudio realizado por este mismo grupo se midieron los niveles séricos de melatonina en 54 niños con una crisis convulsiva, febril y no febril, durante la misma, a la hora y a las 24 horas. Se vió que los niveles de melatonina aumentaban durante la crisis, normalizándose a la hora de la misma. Esto también apoyaría la hipótesis de que ante una situación de estrés agudo se produciría un estímulo que aumentaría la secreción de melatonina (M.-H. A.-F.-F.-M.-C. Molina-Carballo A 2007).

Como se refleja en la gráfica durante las primeras 48 horas de evolución de la sepsis neonatal se produce un descenso de los niveles de melatonina en el grupo de pacientes con sepsis clínica o confirmada. Esto podría justificarse por un consumo de melatonina durante la sepsis y por una pineal, todavía inmadura del recién nacido, que no fuera capaz de responder a este aumento de la demanda. A los 7 días se habrían recuperado los niveles iniciales de partida, todavía elevados con respecto al grupo de sepsis poco probable, lo que podría justificarse por un estímulo pineal todavía activo unido a un menor gasto de melatonina paralelo a la fase de mejoría de la sepsis.

No existen estudios en neonatos con sepsis que hayan valorado el comportamiento de secreción de melatonina a lo largo de la misma y los estudios en niños son escasos. Bagci et al. midieron los niveles nocturnos de melatonina sérica y la excreción urinaria de 6- sulfatoximelatonina en 23 niños con sepsis severa ingresados en la UCIP. Los pacientes con shock séptico tenían niveles de melatonina más elevados que aquellos sépticos sin shock o no sépticos. Por el contrario, no se encontraron diferencias en la excreción

nocturna y total de 6-sulfatoximelatonina entre los pacientes sépticos con o sin shock y los pacientes sin sepsis. Los niveles de melatonina sérica fueron significativamente más elevados en los niños con shock séptico con o sin disfunción hepática con respecto a los no sépticos. La excreción de 6 sulfatoximelatonina fue sin embargo menor en los pacientes sépticos con disfunción hepática en comparación con los sépticos sin disfunción. Estos resultados sugieren que unos niveles elevados de melatonina en niños con shock séptico podrían deberse no solo al aumento de su producción sino también a la disminución de su metabolismo en el hígado (Y. D. Bagci S 2011). Otro estudio realizado por este mismo grupo midiendo las mismas variables en 20 pacientes sépticos y 20 pacientes no sépticos ingresados en la UCIP objetivó que no existían diferencias en los niveles de melatonina nocturna entre los pacientes con y sin sepsis (H. Ö. Bagci S 2012).

Marseglia et al., del grupo de Eloisa Gitto, evaluaron los niveles de melatonina en 16 niños ingresados en la UCIP sedados y conectados a ventilación mecánica. Los picos de melatonina fueron mayores en comparación con niños sanos emparejados por edad (Marseglia L 2013).

Estos estudios irían en concordancia con la hipótesis de que los neonatos con sepsis presentan niveles más elevados de melatonina que los neonatos sin sepsis.

En el adulto, existen varios estudios que han valorado los niveles de melatonina en pacientes críticos ingresados en unidades de cuidados intensivos. Se ha objetivado que en adultos sépticos ingresados en cuidados intensivos existe una disrupción en el ritmo circadiano de melatonina que por el contrario se encontraba preservado en aquellos pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI) pero no sépticos (Mundigler G 2002). En otro estudio, realizado en 8 pacientes críticos sedados y conectados a ventilación mecánica, se objetivó una pérdida del ritmo circadiano de secreción

de melatonina en todos salvo en un paciente que se recuperó más rápidamente (Olofsson K 2004).

Marcadores bioquímicos del ritmo circadiano de secreción de melatonina fueron estudiados en 16 pacientes ingresados en la UCI de dos hospitales regionales suecos. Se objetivó una disminución de la excreción total de 6-sulfatoximelatonina en orina, principal metabolito de la melatonina, en comparación con los valores de referencia de poblaciones sanas. La ventilación mecánica se asoció con un marcado descenso de esta excreción, mientras que la infusión de drogas adrenérgicas incremento la excreción de 6-sulfatoximelatonina de forma significativa. Cinco pacientes (31%) mostraron una excreción ausente durante un periodo de 24 horas o más. Los ritmos diurnos fueron alterados de forma constante o periodica en el 65% y 75% de los pacientes, respectivamente (Frisk U 2004).

Perras y colaboradores midieron los niveles séricos de melatonina a las 2:00 AM en 302 pacientes, viendo que, en los 14 pacientes con sepsis severa, existía una correlación negativa entre la severidad de la enfermedad y los niveles nocturnos de melatonina (K. V. Perras B 2006).

Por tanto en el adulto crítico, al contrario que en los estudios realizados en niños, se ha observado una abolición del ritmo circadiano de melatonina con una producción menor de la misma durante la enfermedad. Esto podría tener relación con la evolución de la producción de melatonina a lo largo de la vida y en relación con la edad. Tras el nacimiento, la secreción de melatonina va aumentando de forma progresiva hasta alcanzar un pico máximo entre el año y los 3 años de vida, a partir de este momento los picos nocturnos de melatonina van descendiendo progresivamente un 80%, hasta alcanzar los niveles del adulto joven (Attanasio, Borrelli y Gupta 1985) (S. H. Waldhauser F 1986). Los niveles de melatonina se mantienen estables en el adulto y posteriormente experimentan un nuevo descenso en la senectud (Iguchi H 1982) (L. A. Sack RL 1986). Ello nos lleva a poder sugerir que la pineal del niño

se encuentra en su fase de máxima actividad, decayendo en la edad adulta, lo que podría justificar una menor respuesta de la pineal del adulto a la inflamación y al estrés oxidativo secundarios a la infección.

Los pacientes con sepsis poco probable mantienen sus niveles de melatonina más o menos estables a lo largo de la evolución. Existen pocos datos publicados acerca de los niveles de melatonina normales en el recién nacido, y en especial en el recién nacido pretérmino. En un estudio previo realizado en nuestro centro y que fue objeto de una tesis doctoral (*“Correlación de los datos clínicos y biológicos del recién nacido pretérmino con distrés respiratorio y sus niveles de melatonina en el primer mes de vida.”* Dra. María Velazquez de Cuéllar Paracchi), se midieron los niveles de melatonina de 32 recién nacidos pretérmino durante el primer mes de vida (menores de 37 semanas de edad gestacional). En la siguiente tabla vemos los niveles medios de melatonina obtenidos en las diferentes determinaciones.

Tabla 5.2. MELATONINA EN RNPT (pg/ml), n=32

	RN	2 días	7 días	14 días	28 días
Media	5,77	14,14	14,79	13,85	15,88
Mediana	4,51	11	14,5	10	12,5
Mínimo	0,1	2	4	2	3
Máximo	16	77	34	39	53
Desviación Estándar	4,51	14,52	7,77	9,76	12,97
Intervalo de Confianza al 95%	4,08-7,45	8,51-19,77	11,77-17,80	9,99-17,72	10,64-21,13
P25	2	5,25	9	6	5,5
P50	4,51	11	14,5	10	12,5
P75	22,25	22,25	22,25	22,25	22,25

Análisis descriptivo de los niveles séricos de melatonina en el RNPT (Datos tomados de la Tesis Doctoral: *“Correlación de los datos clínicos y biológicos del recién nacido pretérmino con distrés respiratorio y sus niveles de melatonina en el primer mes de vida.”* Dra. María Velazquez de Cuéllar Paracchi, Madrid 2013)

Aunque no es posible hacer un análisis estadístico, si comparamos estos datos con los de nuestra muestra para en RNPT vemos que los niveles de melatonina son muy similares para los pacientes con sepsis poco probable. Por

el contrario se encuentran más elevados en los pacientes con sepsis clínica o confirmada.

Tabla 5.3. MELATONINA EN RNPT con SEPSIS POCO PROBABLE (pg/ml), n=3

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Media	4,75	11,2	15,05	16,07	20,4
Mediana	4,75	11,2	15,05	12,9	20,4
Mínimo	3	8,3	14	5,2	13,3
Máximo	6,5	14,1	16,1	30,1	27,5
Desviación Estándar	7,47	4,1	1,48	12,74	10,04
Intervalo de Confianza al 95%	-17,48- 26,98	-25,64- 48,04	1,70- 28,39	-15,60- 47,73	-69,81- 110,61
P25	3	8,3	14	5,2	13,3
P50	4,75	11,2	15,05	12,9	15
P75					20,4

Tabla 5.4. MELATONINA EN RNPT con SEPSIS CLINICA O CONFIRMADA (pg/ml), n=14

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Media	44,88	35,34	35,38	20,42	13,44
Mediana	12,4	26	27,8	19,75	16
Mínimo	1,9	4,3	5,2	8,8	1,9
Máximo	294	95,4	109,6	39,9	22,1
Desviación Estándar	88,89	30,2	35,64	9,92	67,95
Intervalo de Confianza al 95%	-18,71- 108,47	12,12- 58,56	2,42- 68,34	12,13-28,62	7,90- 18,98
P25	5,05	9,75	7,7	11,27	5,65
P50	12,4	26	27,8	19,75	16
P75	38,57	56	44,3	25,12	18,94

En lo que respecta a la melatonina como posible factor predictor de sepsis neonatal vemos que al diagnóstico, analizando la curva ROC, presenta una sensibilidad y especificidad muy pobres. Aunque mejora a las 12 horas del diagnóstico con un área bajo la curva del 75%, lo que permitiría diagnosticar al 75% de los pacientes, ello no tiene relevancia en la práctica clínica debido a que existen otros marcadores con mayor sensibilidad y especificidad tanto al diagnóstico como a las 12 horas. En nuestra muestra tanto la PCR como la PCT se mostraron muy superiores a la melatonina con un área bajo la curva del 73% al diagnóstico y del 87% a las 12 horas para la PCR y del 75% al

diagnóstico y del 96% a las 12 horas para la PCT. En el diagnóstico de la sepsis neonatal se emplean diferentes parámetros activados por la inflamación como la PCR. Igualmente podemos utilizar otros parámetros analíticos como los leucocitos o los neutrófilos. Ningun parámetro proporciona datos para un diagnóstico completamente seguro. Los marcadores como la PCR, la PCT y la interleuquina- 6 constituyen en la actualidad los más utilizados. La comparación de estos parámetros muestra que cada uno de estos biomarcadores presenta sus características particulares. La PCR algunas veces presenta una sensibilidad superior a la PCT y sin embargo reacciona más lentamente y no es muy específica (Distefano G 2004) (Kordek A 2003). La PCR tampoco puede detectar bien la gravedad de una sepsis y si la PCT (Rey C 2007) (Köksal N 2007). La medición de la PCR para reforzar el diagnóstico clínico de una sepsis en neonatos es insuficiente y debe ir siempre acompañada de un biomarcador adicional. En nuestro centro unicamente disponemos de la PCR y la PCT.

Analizamos los niveles de melatonina estableciendo un subgrupo en función de la gravedad, considerando como sepsis grave aquella que cursa con shock séptico o con fracaso multiorgánico.

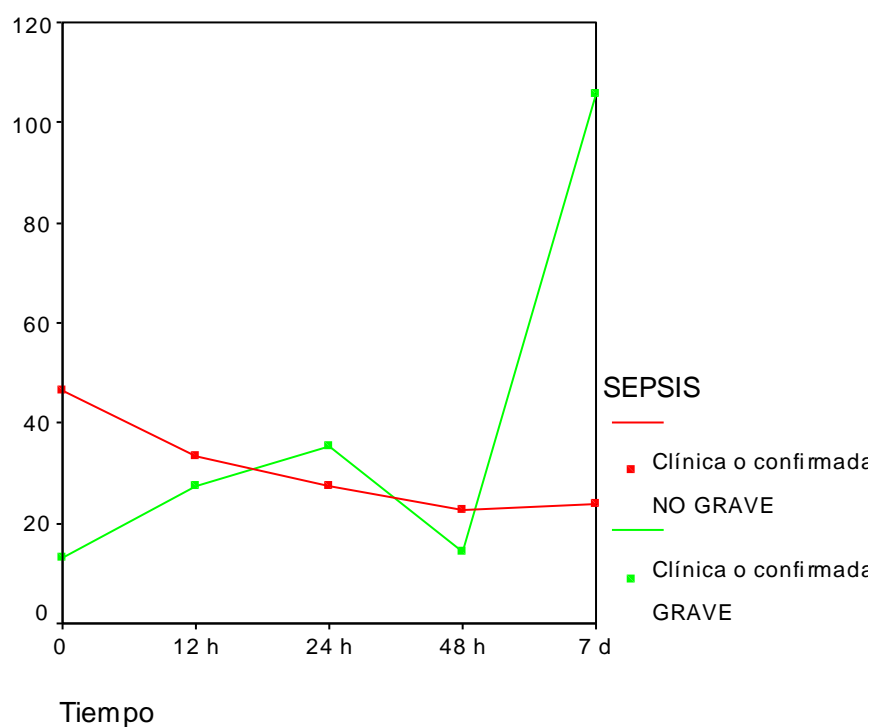


Figura 5.2. Gráfico que muestra la evolución de la melatonina en la sepsis clínica o confirmada no grave y en la sepsis grave. Se marcan las melatoninas medias en cada momento, la desviación estándar de la media queda reflejada en las tablas 4.29 y 4.30.

Analizamos el perfil evolutivo de la melatonina en función de la gravedad con *Efectos Mixtos*. Se objetiva efecto de interacción ($p=0,005$) lo cual significa que los perfiles de evolución de la melatonina en ambos grupos podrían considerarse diferentes. Al diagnóstico los pacientes con sepsis clínica o confirmada grave presentaron niveles más bajos de melatonina con una diferencia que se acercaría a la significación ($p=0,096$). A los 7 días los pacientes con sepsis clínica o confirmada grave presentaron niveles de melatonina más elevados, encontrando aquí una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,001$).

En uno de los estudios realizado en niños se vio que los pacientes con shock séptico tenían niveles de melatonina más elevados que aquellos sépticos sin shock o no sépticos. Los niveles de melatonina sérica fueron significativamente más elevados en los niños con shock séptico con o sin disfunción hepática con respecto a los no sépticos. La excreción de 6-

sulfatoximelatonina fue sin embargo menor en los pacientes sépticos con disfunción hepática en comparación con los sépticos sin disfunción. Por tanto, unos niveles elevados de melatonina en niños con shock séptico podrían deberse no solo al aumento de su producción sino también al descenso de su metabolismo hepático (Y. D. Bagci S 2011). En otro estudio realizado por este mismo grupo se objetivó que los niveles de melatonina en los pacientes con shock séptico eran significativamente más elevados que en los pacientes sépticos pero sin shock. No encontraron efecto de la ventilación mecánica o la sedación sobre los niveles de melatonina (H. Ö. Bagci S 2012).

En adultos, en un estudio realizado en 16 pacientes ingresados en la UCI de dos hospitales regionales suecos se objetivó que la infusión de drogas adrenérgicas se asoció con un incremento de la excreción de 6-sulfatoximelatonina de forma significativa, mientras que la ventilación mecánica se asoció con un descenso (Frisk U 2004).

Perras y colaboradores midieron los niveles séricos de melatonina a las 2:00 AM en 302 pacientes adultos, en la primera noche de ingreso en UCI. Se intentó establecer una correlación entre la severidad de la enfermedad (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score and Therapeutic Intervention Scoring System) y los niveles de melatonina. Analizando todo el grupo de pacientes no existía o era muy débil la correlación entre los niveles nocturnos de melatonina y la severidad de la enfermedad. Por el contrario, el análisis por subgrupos objetivó que, en los 14 pacientes con sepsis severa, existía una correlación negativa entre la severidad de la enfermedad y los niveles nocturnos de melatonina. No existía esta correlación en pacientes admitidos con otras patologías como síndrome coronario, intoxicación, hemorragia digestiva, neumonía o accidente cerebrovascular (K. V. Perras B 2006).

Por tanto, los resultados existentes en cuanto a la melatonina y la gravedad de la sepsis son por un lado escasos y por otro algo contradictorios.

En los estudios realizados en niños parece que la melatonina estaría más elevada en los pacientes graves y por el contrario, en los adultos estaría disminuida, al igual que ocurre para la sepsis en general, sin tener en cuenta la gravedad. Se necesitarían más estudios al respecto. En nuestra muestra todos los pacientes que cumplieron criterios de gravedad ya los presentaban al diagnóstico, es decir, del total de 6 pacientes que cumplieron criterios de sepsis grave a lo largo de la sepsis, el 100% presentaba shock séptico al diagnóstico y el 50% además fracaso multiorgánico. Los niveles de melatonina más bajos al inicio podrían corresponder a un fracaso de la pineal como “órgano”, paralelo a la gravedad de la enfermedad, con imposibilidad para secretar melatonina de forma precoz en respuesta al estímulo de la sepsis. Los resultados más elevados a los 7 días del diagnóstico podrían justificarse por un estímulo pineal intenso a lo largo de la sepsis con una respuesta tardía unido a un menor gasto de melatonina paralelo a la fase de mejoría de la sepsis. De los 6 pacientes que presentaron sepsis grave, únicamente 2 de ellos tenían criterios de gravedad a los 7 días, uno de ellos presentaba shock séptico y el otro fracaso multiorgánico.

Fallecieron únicamente tres pacientes, uno a las 12 horas, otro a las 36 horas y otro a los 7 días del diagnóstico. Como queda reflejado en la siguiente tabla, los datos referentes a los niveles de melatonina son escasos como para sacar conclusiones.

Tabla 5.5. NIVELES DE MELATONINA EN LOS PACIENTES FALLECIDOS (pg/ml), n=3

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Caso 2	<2	<i>Exitus</i>			
Caso 12	6,5	8,3	16,1	12,9	27,5 <i>Exitus</i>
Caso 24	36,5	50,6	109,6	<i>Exitus</i>	

Aunque la melatonina media al diagnóstico fue menor en los pacientes fallecidos frente a los no fallecidos, 14.96 pg/ml y 37.2 pg/ml, respectivamente, esta diferencia no es estadísticamente significativa.

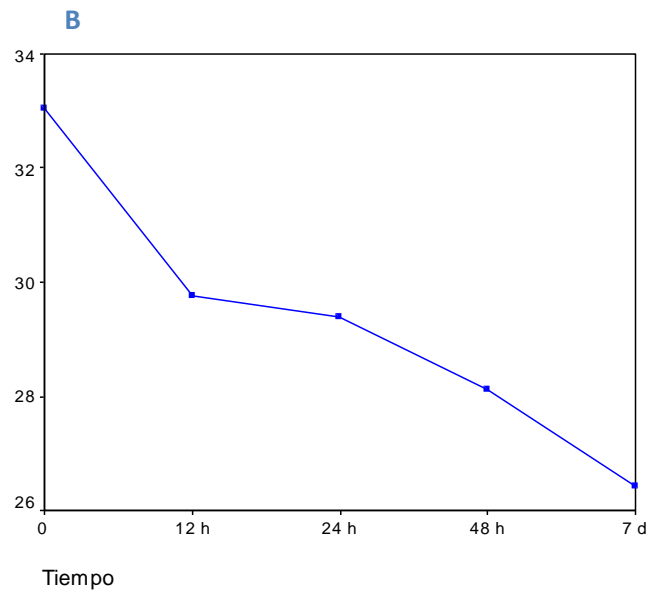
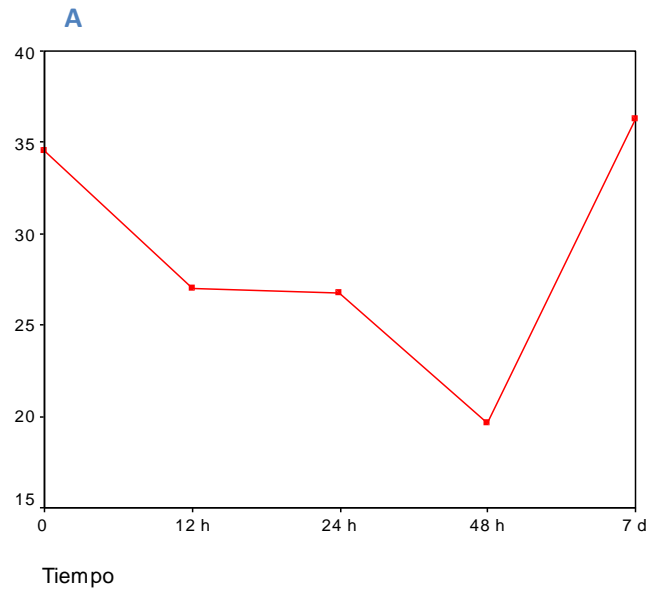
Los datos en la literatura a este respecto son prácticamente nulos. En un estudio realizado en niños con sepsis por Bagci et al. se objetivó que el subgrupo de pacientes que fallecieron presentaba unos niveles de melatonina mas elevados que los supervivientes, siendo por el contrario los niveles de 6-sulfatoximelatonina menores en los fallecidos (H. Ö. Bagci S 2012). Si consideramos que los que fallecieron estaban más graves, los pacientes graves habrían presentado niveles de melatonina más elevados.

5.4. NIVELES DE MELATONINA EN RELACIÓN A OTRAS VARIABLES

La asociación entre melatonina y diferentes variables clínicas y analíticas, a lo largo del tiempo de observación, se ha estudiado utilizando modelos de regresión de efectos mixtos. Estos modelos se utilizan para controlar el efecto de las medidas repetidas no independientes (Sheck DT 2011).

Como variable dependiente se ha considerado la melatonina a lo largo del tiempo y como variable explicativa los valores de las diferentes variables analíticas y clínicas en los mismos momentos.

En cuanto a los niveles de melatonina y la FiO_2 , en los siguientes gráficos se muestra la evolución de ambos en nuestra muestra de pacientes.



Figuras 5.3 y 5.4. Gráficos que muestran la evolución de la melatonina (A) y de la FiO₂ (B) en la sepsis neonatal.

Vemos que tanto la melatonina como la FiO₂ siguen un descenso progresivo a lo largo del tiempo en nuestra muestra. Analizando la relación entre ambas variables utilizando el modelo de regresión lineal con efectos mixtos, se objetiva una relación positiva entre ambas variables estadísticamente significativa ($p= 0.035$), pudiendo afirmar que a mayor FiO₂

mayor melatonina. El coeficiente de regresión es de 0.3, es decir, por cada unidad de aumento en la FiO_2 aumenta la melatonina 0.3.

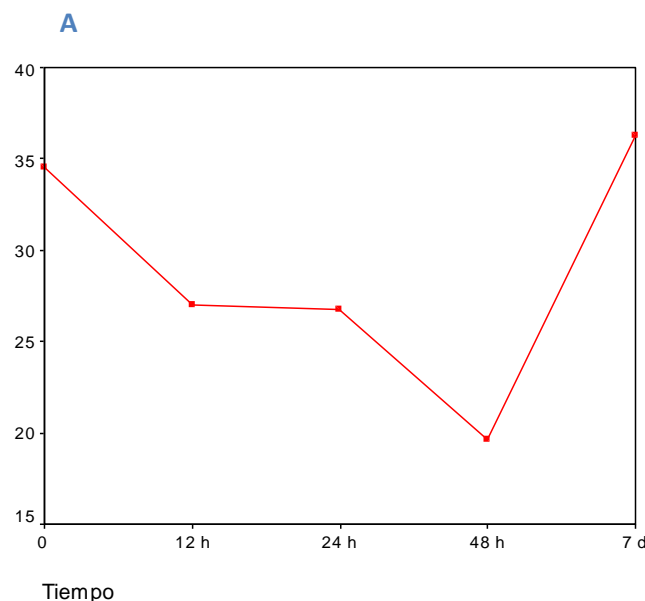
Aunque la oxigenoterapia constituye un pilar fundamental en el tratamiento del recién nacido con sepsis, y especialmente en aquel con distrés respiratorio agudo, constituye una fuente importante de daño para los mismos. Ello es debido a que como resultado de la utilización del oxígeno en el organismo, se generan productos altamente tóxicos y dañinos, los radicales libres. Estos confieren daño a macromoléculas del organismo como el ADN, lípidos, proteínas. Para contrarrestar esta producción de radicales libres el organismo dispone de un sistema de defensa antioxidante que utiliza multitud de compuestos endógenos y exógenos. Pero este sistema no es perfecto y no siempre consigue neutralizar estos radicales libres lo que genera un daño oxidativo en el organismo, estando este en relación directa con proceso del envejecimiento y con el cáncer (M. D.-W.-C. Reiter RJ 1995).

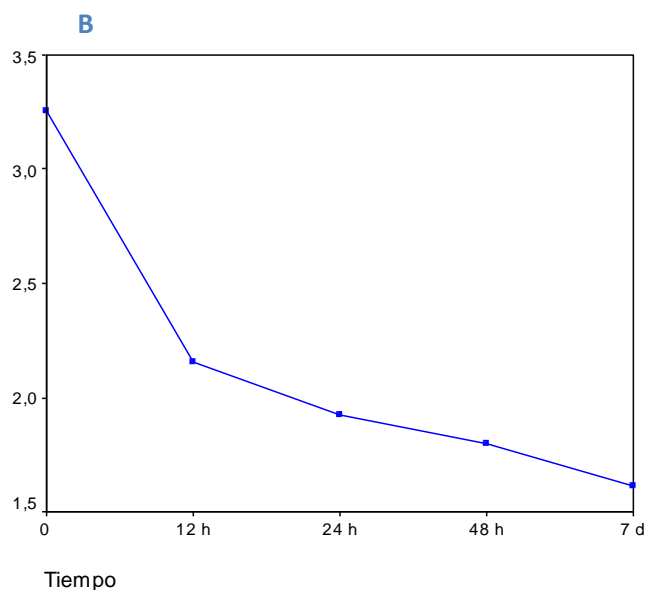
Un mecanismo de acción de la melatonina, independiente de la interacción con receptores o con proteínas celulares, es su interacción con radicales libres protegiendo al ADN, las proteínas y los lípidos del daño oxidativo. Además de la melatonina, numerosos metabolitos que se forman cuando esta interacciona con los radicales libres, constituyen también efectivos antioxidantes (P. S. Reiter RJ 2009). Ello hace que la melatonina sea altamente eficiente en reducir el daño oxidativo y que se hable de la “cascada antioxidante de la melatonina”. Además de su acción antioxidante directa posee efectos indirectos ya que estimula la actividad y expresión de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, glutatión catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (P. S. Reiter RJ 2009) (Rodríguez C 2004) (Tomás-Zapico C 2005).

Una explicación a esta relación entre los niveles de melatonina y la FiO_2 pudiera ser que al producirse un aumento de radicales libres de oxígeno la glándula pineal activara su funcionamiento para contrarrestar estos oxidantes,

altamente tóxicos y dañinos. Con un ambiente rico en oxígeno el organismo se prepararía para contrarrestar la oxidación activando la glándula pineal para aumentar la producción de melatonina. Se ha estudiado como el tratamiento con melatonina influye en los parámetros en relación con el estrés oxidativo en neonatos sépticos. El equipo de Gitto realizó un estudio en el que determinaron los cambios en el estado clínico y en los niveles séricos de los productos de la peroxidación lipídica (malondialdehído y 4- hidroxialkenals) en 10 neonatos sépticos tratados con melatonina administrada en las primeras 12 horas tras el diagnóstico. Otros 10 neonatos con sepsis fueron utilizados como controles sépticos y 10 neonatos sanos como controles sanos. Los productos de la peroxidación lipídica estaban significativamente más elevados en recién nacidos con sepsis con respecto a los recién nacidos sanos. En los neonatos sépticos que fueron tratados con melatonina se objetivó una reducción significativa tanto de malondialdehído como de 4- hidroxialkenals. La melatonina también mejoró el curso clínico observando un descenso de los leucocitos totales, neutrófilos totales y proteína C reactiva a las 24 horas de la administración que se mantenía a las 48 horas (K. M. Gitto E 2001).

Con respecto a los niveles de melatonina y el ácido láctico, en los siguientes gráficos queda reflejada la evolución a lo largo de la sepsis neonatal.





Figuras 5.5 y 5.6. Gráficos que muestran la evolución de la melatonina (A) y del ácido láctico (B) en la sepsis neonatal.

Ambas variables siguen un descenso progresivo a lo largo de la sepsis neonatal. Realizando el análisis estadístico mediante el modelo de regresión lineal con efectos mixtos vemos que existe una relación positiva entre ambas variables estadísticamente significativa ($p= 0.029$), pudiendo afirmar que a mayor ácido láctico mayor melatonina. El coeficiente de regresión es de 3.42, es decir, por cada unidad de aumento en el ácido láctico se produce un aumento de la melatonina de 3.42.

El ácido láctico es el resultado del metabolismo anaerobio de la glucosa. En la figura 5.7. queda reflejada la vía metabólica de producción del ácido láctico. En la sepsis se produce una hipoperfusión tisular con fallo de la oferta de oxígeno a los tejidos que tiene como consecuencia que la obtención de energía por los mismos se lleve a cabo en condiciones de anaerobiosis. Como consecuencia de la insuficiencia circulatoria y respiratoria se impide la correcta oxigenación celular. Como resultado, el piruvato (procedente del metabolismo anaeróbico de la glucosa y de los aminoácidos, fundamentalmente alanina) no se incorpora al ciclo aeróbico de Krebs, dentro de las mitocondrias,

desviándose el metabolismo hacia la conversión a ácido láctico. La producción de energía anaeróbica es pobre: dos moléculas de ATP por cada 32 que se producen de forma aeróbica. Por ello, para mantener constante la fuente de energía, se acelera la glicolisis anaeróbica produciéndose más ácido láctico (Gainza FJ 1998).

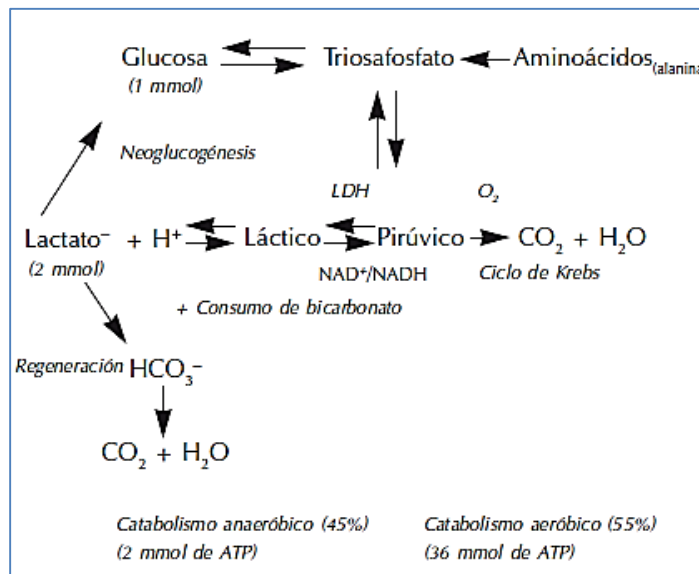


Figura 5.7. Vía metabólica de producción de ácido láctico: La glicolisis aporta energía para la fosforilación del adenosin difosfato (ADP), que se convierte en adenosin 5'-trifosfato (ATP) que proporciona la energía necesaria para el trabajo celular. La vía aeróbica es 18 veces más rentable que la anaeróbica. LDH: enzima lactato deshidrogenasa. NAD⁺: forma oxidada del dinucleótido nicotinamida-adenina. NADH: forma reducida del dinucleótido nicotinamida-adenina. (Gainza FJ 1998).

En condiciones de hipoxia se producen por la vía anaeróbica, a la vez que se genera ATP, numerosos radicales libres. Clásicamente se ha considerado que la formación de ROS depende de una forma directamente proporcional a la presión parcial de O₂ en los tejidos y esto está bien aceptado en el momento actual. Sin embargo, en los últimos años también se ha objetivado lo contrario, que la hipoxia produce un incremento de la producción intracelular de ROS. Esta producción de ROS en condiciones de hipoxia tiene lugar en la mitocondria y es proporcional al grado de hipoxia. Se piensa que los ROS

actuarían como transductores de señal en la cascada de la hipoxia (Gonzalez C1 2002).

Una explicación a esta relación, entre los niveles de melatonina y el ácido láctico, pudiera ser que al producirse un aumento de radicales libres de oxígeno como consecuencia de la hipoxia tisular, la glándula pineal activara su funcionamiento para contrarrestar esta producción. El descenso de melatonina paralelo al del ácido láctico podría también ser resultado de la mejoría progresiva tras el inicio del tratamiento que conllevaría por tanto una menor necesidad de melatonina. Por otro lado el aumento de láctico como hemos visto va ligado a una menor perfusión tisular con menor llegada de oxígeno a los tejidos que estaremos proporcionando de manera exógena para mantener una adecuada oxigenación.

5.5. CONSIDERACIONES FINALES

La sepsis neonatal, y en especial la sepsis grave con shock séptico o fracaso multiorgánico, constituye una patología potencialmente letal originada por una larga cadena de eventos intracelulares secuenciales que tiene como punto de partida la inducción por un patógeno. Estos efectos letales están asociados con la producción y liberación de numerosos mediadores bioquímicos proinflamatorios como las citoquinas, el óxido nítrico (NO), los radicales libres de oxígeno (ROS) y los radicales libres de nitrógeno (RNS). Numerosos estudios clínicos han demostrado la implicación de los ROS y los RNS en la sepsis neonatal y sus complicaciones (Batra S 2000) (Seema 1999) (Kurt AN 2007). Todo ello lleva a pensar que el tratamiento con melatonina podría ser potencialmente útil en estos pacientes.

Hemos visto como en nuestra muestra el grupo de pacientes con sepsis clínica o confirmada presentaban niveles más elevados de melatonina que aquellos con sepsis poco probable. Ello probablemente este en relación con una respuesta del organismo para hacer frente a esta cascada inflamatoria y

estrés oxidativo. También hemos reflejado como los pacientes más graves presentaban inicialmente unos niveles de melatonina menores que aquellos no graves. Estos resultados nos llevan a reflexionar acerca de si todos los pacientes con sepsis neonatal podrían beneficiarse de un tratamiento con melatonina o únicamente aquellos más graves.

Existen numerosos estudios en animales que demuestran que la melatonina sería útil en la sepsis (A.-C. D.-H. Escames G 2006) (P.-P. S. Srinivasan V 2010). Investigando a este respecto se encuentra el grupo del Instituto de Biotecnología de la Universidad de Granada que ha publicado numerosos artículos sugiriendo que la melatonina sería eficaz para frenar la muerte celular como resultado de una sepsis. Para llegar a esta conclusión han realizado múltiples experimentos en el laboratorio con ratones normales y transgénicos, a los que les falta el gen de la óxido nítrico sintasa mitocondrial inducible (iNOS), esta enzima se induciría en respuesta a la sepsis junto con la óxido nítrico sintasa mitocondrial (mtNOS) produciendo óxido nítrico (NO), causante del daño a la mitocondria. El fallo energético mitocondrial y como consecuencia el fallo de la contractilidad muscular observada en la sepsis podría ser el reflejo de los elevados niveles de NO producidos por mtNOS ya que los ratones transgénicos serían resistentes a este daño. La melatonina ha resultado beneficiosa para contrarrestar tanto la actividad de la iNOS como el estrés oxidativo (Escames G 2006). También se ha objetivado que el tratamiento con melatonina es capaz de restaurar la producción de ATP en ratones sépticos (López LC 2006).

El equipo de Eloisa Gitto, es el único que ha realizado ensayos con melatonina en niños, este grupo ha tratado a neonatos con diferentes patologías. En uno de estos estudios, administraron melatonina a neonatos con distrés respiratorio midiendo los niveles de citoquinas proinflamatorias y parámetros en relación con el estrés oxidativo (IL-6, IL-8, TNF y nitratos/nitritos), observando que el grupo de pacientes no tratados con melatonina presentaba niveles más elevados de citoquinas séricas proinflamatorias (R. R. Gitto E

2004). Postularon que las concentraciones elevadas de citoquinas proinflamatorias podrían ser un indicador temprano de displasia broncopulmonar. Para ello siguieron a un grupo de 120 recién nacidos pretérmino encontrando que 8 de los pacientes no tratados con melatonina desarrollaron displasia broncopulmonar, encontrando en este grupo de pacientes unos niveles de IL-6, IL-8, TNF y nitratos/nitritos muy superiores al grupo que no desarrolló displasia broncopulmonar (R. R. Gitto E 2004). En otro estudio posterior realizado en neonatos con ventilación mecánica también se obtuvieron beneficios en los pacientes que fueron tratados con melatonina (R. R. Gitto E 2005).

Este grupo también trató a neonatos sépticos con melatonina observando que en grupo tratado se produjo una reducción significativa de los productos de la peroxidación lipídica (malondialdehído y 4- hidroxialkenals) y una mejoría en el curso clínico observando un descenso de los leucocitos totales, neutrófilos totales y Proteína C reactiva a las 24 horas de la administración que se mantenía a las 48 horas (K. M. Gitto E 2001). Resultados similares se obtuvieron en otro estudio realizado en recién nacidos con asfixia perinatal en los que el tratamiento con melatonina redujo los productos de la peroxidación lipídica y los niveles de nitratos/nitritos (Fulia F 2001). También demostró la utilidad de la melatonina para reducir el estrés oxidativo en relación a procedimientos quirúrgicos, observando que los pacientes que recibieron tratamiento con melatonina presentaron un descenso significativo de diferentes citoquinas y otros mediadores inflamatorios (R. C. Gitto E 2004).

Existen algunos estudios publicados sobre tratamiento con melatonina en niños con diferentes patologías como en la enfermedad de Duchenne (Chahbouni M 2011) o en la epilepsia grave (Uberos J 2011), siendo el equipo de Muñoz-Hoyos de la Universidad de Granada, pioneros en este sentido. Este grupo está desarrollando, en el momento actual, varios ensayos clínicos multicéntricos que comparan melatonina vs placebo como antioxidante y neuroprotector en la prematuridad y en pacientes con asfixia sometidos a

hipotermia. En adultos con sepsis también se están desarrollando en la actualidad ensayos clínicos con el objetivo de evaluar la eficacia del tratamiento con melatonina.

Todavía queda un largo camino por recorrer y se precisan más estudios pero la evidencia actual nos lleva a pensar que los neonatos con sepsis podrían beneficiarse del tratamiento con melatonina. En que momento deberíamos iniciar este tratamiento en el contexto de una sepsis, si en todos los pacientes o solo en aquellos más graves, que parámetros utilizar para la selección de los pacientes y que posología de administración son cuestiones todavía pendientes en el momento actual.

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. Los niveles séricos de melatonina en la sepsis neonatal se encuentran elevados en el grupo de pacientes catalogados como sepsis clínica o confirmada con respecto a los pacientes con sepsis poco probable. Ello nos lleva a pensar que, ante la sepsis, la glándula pineal del neonato responde aumentando la producción de melatonina.
2. Los niveles de melatonina sérica no serían de utilidad en la práctica clínica como factor predictor de sepsis neonatal por existir otros parámetros con mayor sensibilidad y especificidad.
3. El perfil evolutivo de la melatonina es diferente en función de la gravedad de la sepsis neonatal. Los pacientes graves presentan unos niveles de melatonina disminuidos en el momento del diagnóstico lo que podría estar en relación con un fracaso inicial de la glándula pineal en el contexto de la enfermedad. Los pacientes graves presentan unos niveles de melatonina más elevados a los 7 días del diagnóstico, pudiendo ser consecuencia de un mayor estímulo de la glándula pineal durante la sepsis que sería proporcional a la gravedad.
4. El escaso número de pacientes fallecidos, impide establecer conclusiones respecto de la mortalidad en relación con la evolución de los niveles de melatonina.
5. Existe una relación estadísticamente significativa entre los niveles de melatonina y la FiO_2 , pudiendo afirmar que a mayor FiO_2 mayor melatonina. Ello podría estar en relación con un aumento de la producción de melatonina para contrarrestar el estrés oxidativo y la producción de radicales libres de oxígeno.

6. Asimismo los niveles de melatonina se relacionan con los niveles de ácido láctico, pudiendo afirmar que a mayor ácido láctico mayor melatonina. Esto podría justificarse por un incremento de la producción de melatonina en respuesta al aumento de radicales libres en relación con la hipoxia.
7. No se ha encontrado asociación entre la melatonina y otras variables analíticas como los leucocitos, los neutrófilos, la PCR o la PCT.
8. Todavía queda un largo camino por recorrer y se precisan más estudios pero la evidencia actual nos lleva a pensar que los neonatos con sepsis podrían beneficiarse del tratamiento con melatonina. Cuando iniciar este tratamiento en el contexto de una sepsis, si en todos los pacientes o únicamente en aquellos más graves, que parámetros utilizar para la selección de los pacientes y que posología de administración son cuestiones todavía pendientes en el momento actual.

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Aunque el estudio presenta posiblemente numerosas limitaciones, hemos querido reflejar en nuestra opinión las más relevantes. En cuanto al diseño, una de las limitaciones sería que se trata de un estudio longitudinal observacional con la ausencia de un grupo control. Otra limitación, como ya hemos comentado previamente sería la ausencia de una definición de sepsis validada en otros estudios.

La segunda limitación importante sería el tamaño muestral pequeño y la heterogeneidad de la muestra. El tamaño muestral se ha visto solventado en parte por la toma de varias muestras de melatonina a cada paciente, lo que ha aumentado globalmente el número de determinaciones.

Dada la dificultad de la extracción de muestras en el recién nacido, especialmente en el pretérmino, en algunos casos no fue posible el análisis de melatonina en todos los momentos, y en otros la muestra de sangre fue insuficiente para la determinación al ser de un volumen escaso. Ello ha hecho que algunos pacientes no estén completos.

8. BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abraham E, Singer M. «Mechanisms of sepsis-induced organ dysfunction.» *Crit Care Med*, 2007: 35(10):2408-16.
- ACOG Committee on Obstetric Practice. «ACOG Committee Opinion No. 475: Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation.» *Obstet Gynecol*, 2011: 117(2 Pt 1):422-4.
- Acuña-Castroviejo D, Escames G, Macías M, Muñoz Hoyos A, Molina Carballo A, Arauzo M, Montes R. «Cell protective role of melatonin in the brain.» *J Pineal Res*, 1995: 19(2):57-63.
- Alexander JM, McIntire DM, Leveno KJ. «Chorioamnionitis and the prognosis for term infants.» *Obstet Gynecol*, 1999: 94(2):274-8.
- Al-Nawas B, Krammer I, Shah PM. «Procalcitonin in diagnosis of severe infections.» *Eur J Med Res*, 1996: 1(7):331-3.
- «American Academy of Sleep Medicine, ICSD- International classification of sleep disorders, revised: Diagnostic and coding manual.» *American Academy of Sleep Medicine*, 2001.
- American Heart Association, Kattwinkel J, Perlman JM, Aziz K, Colby C, Fairchild K, Gallagher J, Hazinski MF, Halamek LP, Kumar P, Little G, McGowan JE, Nightengale B, Ramirez MM, Ringer S, Simon WM, Weiner GM, Wyckoff M, Zaichkin J. «Neonatal resuscitation: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care.» *Pediatrics*, 2010: 126(5):e1400-13.
- Aparicio S, Garau C, Esteban S, Nicolau MC, Rivero M, Rial RV. «Chrononutrition: use of dissociated day/night infant milk formulas to improve the development of the wake-sleep rhythms. Effects of tryptophan.» *Nutr Neurosci*, 2007: 10(3-4):137-43.
- Apgar V. «A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant.» *Curr Res Anesth Analg*, 1953: 32(4):260-7.
- Ardura J, Gutierrez R, Andres J, Agapito T. «Emergence and evolution of the circadian rhythm of melatonin in children.» *Horm Res*, 2003: 59(2):66-72.
- Arendt J. «Melatonin and Human rhythms.» *Chronobiology International*, 2006: 23(1-2):21-37.

- Arendt J, Aldhous M, Wright J. «Alleviation of jetlag by melatonin: Preliminary results of controlled double blind trial.» *British Medical Journal*, 1986: 292(6529),1170.
- Arendt J, Symons AM, Laud C. «Pineal function in the sheep: evidence for a possible mechanism mediating seasonal reproductive activity.» *Experientia*, 1981: 37:584-586.
- Attanasio, A, P Borrelli, y D Gupta. «Circadian rhythms in serum melatonin from infancy to adolescence.» *J Clin Endocrinol Metab*, 1985: 61(2):388-90.
- Auriti C, Fiscarelli E, Ronchetti MP, Argentieri M, Marrocco G, Quondamcarlo A, Seganti G, Bagnoli F, Buonocore G, Serra G, Bacolla G, Mastropasqua S, Mari A, Corchia C, Prencipe G, Piersigilli F, Ravà L, Di Ciommo V. «Procalcitonin in detecting neonatal nosocomial sepsis.» *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2012: 97(5):F368-70.
- Axelrod J, Shein HM, Wurtman RJ. «Stimulation of C14-melatonin synthesis from C14-Tryptophan by noradrenaline in rat pineal in organ culture.» *Proc Natl Acad Sci USA*, 1969: 62:544.
- Bagci S, Horoz ÖÖ, Yildizdas D, Reinsberg J, Bartmann P, Müller A. «Melatonin status in pediatric intensive care patients with sepsis.» *Pediatr Crit Care Med*, 2012: 13(2):e120-3.
- Bagci S, Yildizdas D, Horoz OO, Reinsberg J, Bartmann P, Mueller A. «Use of nocturnal melatonin concentration and urinary 6-sulfatoxymelatonin excretion to evaluate melatonin status in children with severe sepsis.» *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2011: 24(11-12):1025-30.
- Banach M, Gurdziel E, Jędrych M, Borowicz KK. «Melatonin in experimental seizures and epilepsy.» *Pharmacol Rep*, 2011: 63(1):1-11.
- Batra S, Kumar R, Kapoor AK, Ray G. «Alterations in antioxidant status during neonatal sepsis.» *Ann Trop Paediatr*, 2000: 20(1):27-33.
- Bazil CW, Short D, Crispin D, Zheng W. «Patients with intractable epilepsy have low melatonin, which increases following seizures.» *Neurology*, 2000: 55(11):1746-8.
- Beagley KW, Gockel CM. «Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone.» *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2003: 38(1):13-22.
- Benz LM, Scates AC. «Melatonin treatment for insomnia in pediatric patients with attention-deficit/hyperactivity disorder.» *Ann Pharmacother*, 2010: 44(1):185-91.

- Benitz WE. «Adjunct laboratory tests in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis.» *Clin Perinatol*, 2010: 37(2):421-38.
- Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. «Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection.» *Pediatrics*, 1998: 102(4):E41.
- Bizzarro MJ, Raskind C, Baltimore RS, Gallagher PG. «Seventy-five years of neonatal sepsis at Yale: 1928-2003.» *Pediatrics*, 2005: 116(3):595-602.
- Blask DE, Dauchy RT, Sauer LA. «Putting cancer to sleep at night: The neuroendocrine/circadian melatonin signal.» *Endocrine*, 2005: 27(2): 179-188.
- Blume HK, Li CI, Loch CM, Koepsell TD. «Intrapartum fever and chorioamnionitis as risks for encephalopathy in term newborns: a case-control study.» *Dev Med Child Neurol*, 2008: 50(1):19-24.
- Bouman A, Heineman MJ, Faas MM. «Sex hormones and the immune response in humans.» *Hum Reprod Update*, 2005: 11(4):411-23.
- Bourne RS, Mills GH, Minelli C. «Melatonin therapy to improve nocturnal sleep in critically ill patients: encouraging results from a small randomised controlled trial.» *Crit Care*, 2008: 12(2):R52.
- Bourne RS, Mills GH. «Melatonin: possible implications for the postoperative and critically ill patient.» *Intensive Care Med*, 2006: 32(3):371-9.
- Braam W, Smits MG, Didden R, Korzilius H, Van Geijlswijk IM, Curfs LM. «Exogenous melatonin for sleep problems in individuals with intellectual disability: a meta-analysis.» *Dev Med Child Neurol*, 2009: 51(5):340-349.
- Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F. «Interleukin-6: a sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection.» *Pediatrics*, 1994: 93(1):54-8.
- Camacho-Gonzalez A, Spearman PW, Stoll BJ. «Neonatal infectious diseases: evaluation of neonatal sepsis.» *Pediatr Clin North Am*, 2013: 60(2):367-89.
- Cardinali DP, Vacas MI, Gejman PV. «The sympathetic superior cervical ganglia as peripheral neuroendocrine centers.» *J Neural Transm*, 1981: 52:1-21.
- Carr R, Wasdell MB, Hamilton D, Weiss MD, Freeman RD, Tai J, Rietveld WJ, Jan JE. «Long-term effectiveness outcome of melatonin therapy in children with treatment-resistant circadian rhythm sleep disorders.» *J Pineal Res*, 2007: 43(4):351-9.
- Carrel L, Willard HF. «X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females.» *Nature*, 2005: 434(7031):400-4.

- Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ. «A review of the multiple actions of melatonin on the immune system.» *Endocrine*, 2005: 27(2):189-200.
- Chahbouni M1, Escames G, López LC, Sevilla B, Doerrier C, Muñoz-Hoyos A, Molina-Carballo A, Acuña-Castroviejo D. «Melatonin treatment counteracts the hyperoxidative status in erythrocytes of patients suffering from Duchenne muscular dystrophy.» *Clin Biochem*, 2011: 44(10-11):853-8.
- Chiesa C, Natale F, Pascone R, Osborn JF, Pacifico L, Bonci E, De Curtis M. «C reactive protein and procalcitonin: reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period.» *Clin Chim Acta*, 2011: 412(11-12):1053-9.
- Chiesa C, Natale F, Pascone R, Osborn JF, Pacifico L, Bonci E, De Curtis M. «C reactive protein and procalcitonin: reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period.» *Clin Chim Acta*, 2011: 412(11-12):1053-9.
- Chiesa C, Signore F, Assumma M, Buffone E, Tramontozzi P, Osborn JF, Pacifico L. «Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders.» *Clin Chem*, 2001: 47(6):1016-22.
- Christensen RD, Rothstein G. «Pitfalls in the interpretation of leukocyte counts of newborn infants.» *Am J Clin Pathol*, 1979: 72(4):608-11.
- Christensen RD, Rothstein G, Hill HR, Hall RT. «Fatal early onset group B streptococcal sepsis with normal leukocyte counts.» *Pediatr Infect Dis*, 1985: 4(3):242-5.
- Clyman RI, Saugstad OD, Mauray F. «Reactive oxygen metabolites relax the lamb ductus arteriosus by stimulating prostaglandin production.» *Circ Res*, 1989: 64(1):1-8.
- Cohen Engler A, Hadash A, Shehadeh N, Pillar G. «Breastfeeding may improve nocturnal sleep and reduce infantile colic: potential role of breast milk melatonin.» *Eur J Pediatr*, 2012: 171(4):729-32.
- Cortesi F, Giannotti F, Ivanenko A, Johnson K. «Sleep in children with autistic spectrum disorder.» *Sleep Med*, 2010: 11(7):659-64.
- Cowett RM, Peter G, Hakanson DO, Oh W. «Reliability of bacterial culture of blood obtained from an umbilical artery catheter.» *J Pediatr*, 1976: 88(6):1035-6.
- Csaba G, Barath P. «Morphological changes of thymus and the thyroid gland after postnatal extirpation of pineal body.» *Endocrinol Exp*, 1975: 9:59-67.

- Cubero J, Valero V, Sánchez J, Rivero M, Parvez H, Rodriguez AB, Barriga C. «The circadian rhythm of tryptophan in breast milk affects the rhythms of 6-sulfatoxymelatonin and sleep in newborn.» *Neuro Endocrinol Lett*, 2005: 26(6):657-61.
- Currier NL, Sun LZ, Miller SC. «Exogenous melatonin: quantitative enhancement in vivo of cells mediating non-specific immunity.» *J Neuroimmunol*, 2000: 104(2):101-108.
- De Leersnyder H, Bresson JL, de Blois MC, Souberbielle JC, Mogenet A, Delhotal-Landes B, Salefranque F, Munnich A. «Beta 1-adrenergic antagonists and melatonin reset the clock and restore sleep in a circadian disorder, Smith-Magenis syndrome.» *J Med Genet*, 2003: 40(1):74-8.
- DeMuro RL, Nafziger AN, Blask DE, Menhinick AM, Bertino JS Jr. «The absolute bioavailability of oral melatonin.» *J Clin Pharmacol*, 2000: 40(7):781-4.
- Dietzman DE, Fischer GW, Schoenknecht FD. «Neonatal Escherichia coli septicemia--bacterial counts in blood.» *J Pediatr*, 1974: 85(1):128-30.
- Distefano G, Curreri R, Betta P, Romeo MG, Amato M. «Procalcitonin serum levels in perinatal bacterial and fungal infection of preterm infants.» *Acta Paediatr*, 2004: 93(2):216-9.
- Doyen C, Mighiu D, Kaye K, Colineaux C, Beaumanoir C, Mouraëff Y, Rieu C, Paubel P, Contejean Y. «Melatonin in children with autistic spectrum disorders: recent and practical data.» *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 2011: 20(5):231-9.
- Eldadah M, Frenkel LD, Hiatt IM, Hegyi T. «Evaluation of routine lumbar punctures in newborn infants with respiratory distress syndrome.» *Pediatr Infect Dis J*, 1987: 6(3):243-6.
- Escames G, Acuña-Castroviejo D, López LC, Tan DX, Maldonado MD, Sánchez-Hidalgo M, León J, Reiter RJ. «Pharmacological utility of melatonin in the treatment of septic shock: experimental and clinical evidence.» *J Pharm Pharmacol*, 2006: 58(9):1153-65.
- Escames G, López LC, Tapias V, Utrilla P, Reiter RJ, Hitos AB, León J, Rodríguez MI, Acuña-Castroviejo D. «Melatonin counteracts inducible mitochondrial nitric oxide synthase-dependent mitochondrial dysfunction in skeletal muscle of septic mice.» *J Pineal Res*, 2006: 40(1):71-8.
- Escobar GJ, Li DK, Armstrong MA, Gardner MN, Folck BF, Verdi JE, Xiong B, Bergen R. «Neonatal sepsis workups in infants \geq 2000 grams at birth: A population-based study.» *Pediatrics*, 2000: 106(2 Pt 1):256-63.
- European Medicines Agency. «Report on the expert meeting on neonatal and paediatric sepsis.» *Expert meeting on neonatal and paediatric sepsis*. London, UK, 2010. 1-6.

- Fariello RG, Bubenik GA, Brown GM, Grota LJ. «Epileptogenic action of intraventricularly injected antimelatonin antibody.» *Neurology*, 1977: 27(6):567-70.
- Fenoglio-Simeone K, Mazarati A, Sefidvash-Hockley S, Shin D, Wilke J, Milligan H, Sankar R, Rho JM, Maganti R. «Anticonvulsant effects of the selective melatonin receptor agonist ramelteon.» *Epilepsy Behav*, 2009: 16(1):52-7.
- Fernández Colomer B, López Sastre J, Coto Cotallo GD, Ramos Aparicio A, Ibáñez Fernández A. «Sepsis del recién nacido.» En *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP: Neonatología*, de Junta Directiva de la Sociedad Española de Neonatología (SEN), 189-206. Madrid, 2008.
- Ferrieri P, Wallen LD. «Neonatal bacterial sepsis.» En *Avery's diseases of the newborn. Ninth edition*, de Devaskar SU Gleason CA, 538-550. Philadelphia: Elsevier, 2012.
- Fiske VM, Bryant K, Putnam J. «Effect of light on the weight of pineal in the rat.» *J Endocrinol*, 1960: 66:489.
- Fraser J, Wraith JE, Delatycki MB. «Sleep disturbance in mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome): a survey of managing clinicians.» *Clin Genet*, 2002: 62(5):418-21.
- Frisk U, Olsson J, Nylén P, Hahn RG. «Low melatonin excretion during mechanical ventilation in the intensive care unit.» *Clin Sci (Lond)*, 2004: 107(1):47-53.
- Fulia F, Gitto E, Cuzzocrea S, Reiter RJ, Dugo L, Gitto P, Barberi S, Cordaro S, Barberi I. «Increased levels of malondialdehyde and nitrite/nitrate in the blood of asphyxiated newborns: reduction by melatonin.» *J Pineal Res*, 2001: 31:343-349.
- Gainza FJ, Gimeno I, Muñiz R. «Acidosis láctica.» *Nefrología*, 1998: 18(5):357-361.
- García- Marques E, Iniesta S, Marbán E, Martínez- Lara A, Orensanz I, Zapardiel I. «Capítulo 7: Rotura prematura de membranas.» En *Guía práctica de urgencias en obstetricia y ginecología*, de De la Fuente J, Bajo JM Zapardiel I, 29-31. Madrid: Habe editores, 2008.
- García-Marqués E, Iniesta S, Marbán E, Martínez-Lara A, Orensanz I, Zapardiel I. «Capítulo 8: Amenaza de parto pretérmino.» En *Guía practica de urgencias en obstetricia y ginecología*, de De La Fuente J, Bajo JM, Zapardiel I, 31-33. Madrid: Habe editores, 2008.
- García-Maurino S, Pozo D, Carrillo-Vico A, Calvo JR, Guerrero JM. «Melatonin activates Th1 lymphocytes by increasing IL-12 production.» *Life Sci*, 1999: 65:2143-2150.

- Garcia-Prats JA, Cooper TR, Schneider VF, Stager CE, Hansen TN. «Rapid detection of microorganisms in blood cultures of newborn infants utilizing an automated blood culture system.» *Pediatrics*, 2000: 105(3 Pt 1):523-7.
- Garges HP, Moody MA, Cotten CM, Smith PB, Tiffany KF, Lenfestey R, Li JS, Fowler VG Jr, Benjamin DK Jr. «Neonatal meningitis: what is the correlation among cerebrospinal fluid cultures, blood cultures, and cerebrospinal fluid parameters?» *Pediatrics*, 2006: 117(4):1094-100.
- Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ, Tan DX, Cuzzocrea S, Chiurazzi P, Cordaro S, Corona G, Trimarchi G, Barberi I. «Effects of melatonin treatment in septic newborns.» *Pediatr Res*, 2001: 50(6):756-60.
- Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ, Tan DX, Cuzzocrea S, Chiurazzi P, Cordaro S, Corona G, Trimarchi G, Barberi I. «Effects of melatonin treatment in septic newborns.» *Pediatr Res*, 2001: 50(6):756-60.
- Gitto E, Pellegrino S, Gitto P, Barberi I, Reiter RJ. «Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin.» *J Pineal Res*, 2009: 46(2):128-39.
- Gitto E, Reiter RJ, Cordaro SP, La Rosa M, Chiurazzi P, Trimarchi G, Gitto P, Calabrò MP, Barberi I. «Oxidative and inflammatory parameters in respiratory distress syndrome of preterm newborns: beneficial effects of melatonin.» *Am J Perinatol*, 2004: 21(4):209-16.
- Gitto E, Reiter RJ, Gitto E, Reiter RJ, Amodio A, Romeo C, Cuzzocrea E, Sabatino G, Buonocore G, Cordaro V, Trimarchi G, Barberi I. «Early indicators of chronic lung disease in preterm infants with respiratory distress syndrome and their inhibition by melatonin.» *J Pineal Res*, 2004: 36(4):250-5.
- Gitto E, Reiter RJ, Karbownik M, Tan DX, Gitto P, Barberi S, Barberi I. «Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period.» *Biol Neonate*, 2002: 81(3):146-57.
- Gitto E, Reiter RJ, Sabatino G, Buonocore G, Romeo C, Gitto P, Buggé C, Trimarchi G, Barberi I. «Correlation among cytokines, bronchopulmonary dysplasia and modality of ventilation in preterm newborns: improvement with melatonin treatment.» *J Pineal Res*, 2005: 39(3):287-93.
- Gitto E, Romeo C, Reiter RJ, Impellizzeri P, Pesce S, Basile M, Antonuccio P, Trimarchi G, Gentile C, Barberi I, Zuccarello B. «Melatonin reduces oxidative stress in surgical neonates.» *J Pediatr Surg*, 2004: 39:184-189.
- Gleicher N1, Barad DH. «Gender as risk factor for autoimmune diseases.» *J Autoimmun*, 2007: 28(1):1-6.

- Gonzalez C, Sanz-Alfayate G, Agapito MT, Gomez-Niño A, Rocher A, Obeso A. «Significance of ROS in oxygen sensing in cell systems with sensitivity to physiological hypoxia.» *Respir Physiol Neurobiol*. 2002; 132(1):17-41J.
- Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. «International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics.» *Pediatr Crit Care Med*, 2005; 6(1):2-8.
- Guérolé F, Godbout R, Nicolas A, Franco P, Claustrat B, Baleyte JM. «Melatonin for disordered sleep in individuals with autism spectrum disorders: systematic review and discussion.» *Sleep Med Rev*, 2011; 15(6):379-87.
- Guida JD, Kunig AM, Leef KH, McKenzie SE, Paul DA. «Platelet count and sepsis in very low birth weight neonates: is there an organism-specific response?» *Pediatrics*, 2003; 111(6 Pt 1):1411-5.
- Guo JF, Yao BZ. «Serum melatonin levels in children with epilepsy or febrile seizures.» *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2009; 11(4):288-90.
- Haque KN. «Definitions of bloodstream infection in the newborn.» *Pediatr Crit Care Med*, 2005; 6(3 Suppl):S45-9.
- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J. «Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis.» *Am J Respir Crit Care Med*, 2001; 164(3):396-402.
- Hardeland R. «Melatonin, hormone of darkness and more: occurrence, control mechanisms, actions and bioactive metabolites.» *Cell Mol Life Sci*, 2008; 65 (13):2001-18.
- Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan DX. «The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances.» *Neurosci Biobehav Rev*, 1993; 17:347-357.
- Haynes RL, Folkerth RD, Keefe RJ, Sung I, Swzeda LI, Rosenberg PA, Volpe JJ, Kinney HC. «Nitrosative and oxidative injury to premyelinating oligodendrocytes in periventricular leukomalacia.» *J Neuropathol Exp Neurol*, 2003; 62(5):441-50.
- Hengst JM. «The role of C-reactive protein in the evaluation and management of infants with suspected sepsis.» *Adv Neonatal Care*, 2003; 3(1):3-13.
- Heubner O. «Tumor der glandula pinealis.» *Detsch Med Wochenschr*, 1898; 24:214-220.

- Hoebert M, van der Heijden KB, van Geijlswijk IM, Smits MG. «Long-term follow-up of melatonin treatment in children with ADHD and chronic sleep onset insomnia.» *J Pineal Res*, 2009: 47(1):1-7.
- Hofer N, Müller W, Resch B. «Non-infectious conditions and gestational age influence C-reactive protein values in newborns during the first 3 days of life.» *Clin Chem Lab Med*, 2011: 49(2):297-302.
- Hofer N, Zacharias E, Müller W, Resch B. «Performance of the definitions of the systemic inflammatory response syndrome and sepsis in neonates.» *J Perinat Med*, 2012: 0(0):1-4.
- Hornik CP, Benjamin DK, Becker KC, Benjamin DK Jr, Li J, Clark RH, Cohen-Wolkowicz M, Smith PB. «Use of the complete blood cell count in early-onset neonatal sepsis.» *Pediatr Infect Dis J*, 2012: 31(8):799-802.
- Iguchi H, Kato KI, Ibayashi H. «Age-dependent reduction in serum melatonin concentrations in healthy human subjects.» *J Clin Endocrinol Metab*, 1982: 55(1): 27-29.
- Illnerová H, Buresová M, Presl J. «Melatonin rhythm in human milk.» *J Clin Endocrinol Metab*, 1993: 77(3):838-41.
- Illnerova H, Hoffman K, Vanecek J. «Adjustment of the rat pineal N-acetyltransferase rhythm to change from long to short photoperiod depends on the direction of the extension of the dark period.» *Brain Res*, 1986: 362:403-408.
- Illnerova H, Vanecek J. «Pineal rhythm in N-acetyltransferase activity in rats under different artificial photoperiods and in natural daylight in the course of the year.» *Neuroendocrinology*, 1980: 31 (5):321-326.
- Illnerova H, Vanecek J. «Response of rat pineal serotonin-N-acetyltransferase to one min light pulse at different night times.» *Brain Res*, 1979: 167:431-434.
- Isaacs D, Barfield CP, Grimwood K, McPhee AJ, Minutillo C, Tudehope DI. «Systemic bacterial and fungal infections in infants in Australian neonatal units. Australian Study Group for Neonatal Infections.» *Med J Aust*, 1995: 162(4):198-201.
- Isik B, Baygin O, Bodur H. «Premedication with melatonin vs midazolam in anxious children.» *Paediatr Anaesth*, 2008: 18(7):635-41.
- Jaldo-Alba F, Muñoz-Hoyos A, Molina-Carballo A, Molina-Font JA, Acuña-Castroviejo D. «Light deprivation increases plasma levels of melatonin during the first 72 h of life in human infants.» *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1993: 129(5):442-5.
- Jan JE, Espezel H, Appleton RE. «The treatment of sleep disorders with melatonin.» *Dev Med Child Neurol*, 1994: 36(2):97-107.

- Jan JE, Wasdell MB, Freeman RD, Bax M. «Evidence supporting the use of melatonin in short gestation infants.» *J Pineal Res*, 2007: 42(1):22-7.
- Jawaheer G, Neal TJ, Shaw NJ. «Blood culture volume and detection of coagulase negative staphylococcal septicaemia in neonates.» *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 1997: 76(1): F57–F58.
- Johnson CE, Whitwell JK, Pethe K, Saxena K, Super DM. «Term newborns who are at risk for sepsis: are lumbar punctures necessary?» *Pediatrics*, 1997: 99(4):E10.
- Johnson K, Page A, Williams H, Wassemer E, Whitehouse W. «The use of melatonin as an alternative to sedation in uncooperative children undergoing an MRI examination.» *Clin Radiol*, 2002: 57(6):502-6.
- Jordan JA, Durso MB. «Comparison of 16S rRNA gene PCR and BACTEC 9240 for detection of neonatal bacteremia.» *J Clin Microbiol*, 2000: 38(7):2574-8.
- Kain ZN, MacLaren JE, Herrmann L, Mayes L, Rosenbaum A, Hata J, Lerman J. «Preoperative melatonin and its effects on induction and emergence in children undergoing anesthesia and surgery.» *Anesthesiology*, 2009: 111(1):44-9.
- Kattwinkel J, Perlman JM, Aziz K, Colby C, Fairchild K, Gallagher J, Hazinski MF, Halamek LP, Kumar P, Little G, McGowan JE, Nightengale B, Ramirez MM, Ringer S, Simon WM, Weiner GM, Wyckoff M, Zaichkin J, American Heart Association. «Neonatal resuscitation: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care.» *Pediatrics*, 2010: 126(5):e1400-13.
- Kennaway DJ, Goble FC, Stamp GE. «Factors influencing the development of melatonin rhythmicity in humans.» *J Clin Endocrinol Metab*, 1996: 81(4):1525-32.
- Kennaway DJ, Stamp GE, Goble FC. «Development of melatonin production in infants and the impact of prematurity.» *J Clin Endocrinol Metab*, 1992: 75(2):367-9.
- Kitay JI, Altschule MD. «Effects of pineal extract administration on ovary weight in rats.» *Endocrinol*, 1954: 55:782.
- Kitay JI, Altschule MD. *The pineal gland. A review of the physiologic literature.* Cambridge: Harvard University Press, 1954.
- Klein DC, Weller JL. «Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in pineal serotonin N-acetyltransferase activity.» *Science*, 1970: 169(3950):1093-5.
- Klein DC, Weller JL. «Rapid light-induced decrease in pineal serotonin N-acetyltransferase activity.» *Science*, 1972: 177(4048):532-3.

- Köksal N, Harmanci R, Cetinkaya M, Hacimustafaoğlu M. «Role of procalcitonin and CRP in diagnosis and follow-up of neonatal sepsis.» *Turk J Pediatr*, 2007: 49(1):21-9.
- Kordek A, Giedrys-Kalemba S, Pawlus B, Podraza W, Czajka R. «Umbilical cord blood serum procalcitonin concentration in the diagnosis of early neonatal infection.» *J Perinatol*, 2003: 23(2):148-53.
- Kormaz A, Sanchez-Barcelo E, Tan DX, Reiter RJ. «Role of melatonin in the epigenetic regulation of breast cancer.» *Breast Cancer Res Treat*, 2009: 115(1):13-27.
- Kurt AN, Aygun AD, Godekmerdan A, Kurt A, Dogan Y, Yilmaz E. «Serum IL-1beta, IL-6, IL-8, and TNF-alpha levels in early diagnosis and management of neonatal sepsis.» *Mediators Inflamm*, 2007: 2007:31397.
- Lam HS, Ng PC. «Biochemical markers of neonatal sepsis.» *Pathology*, 2008: 40(2):141-8.
- Lambert RM, Baer VL, Wiedmeier SE, Henry E, Burnett J, Christensen RD. «Isolated elevated blood neutrophil concentration at altitude does not require NICU admission if appropriate reference ranges are used.» *J Perinatol*, 2009: 29(12):822-5.
- Lapillonne A, Basson E, Monneret G, Bienvenu J, Salle BL. «Lack of specificity of procalcitonin for sepsis diagnosis in premature infants.» *Lancet*, 1998: 351(9110):1211-2.
- Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. «Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes.» *J Am Chem Soc*, 1958: 80:2587.
- Lewy AJ, Wher TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP. «Light suppresses melatonin secretion in humans.» *Science*, 1980: 210:1267-1269.
- López LC, Escames G, Ortiz F, Ros E, Acuña-Castroviejo D. «Melatonin restores the mitochondrial production of ATP in septic mice.» *Neuro Endocrinol Lett*, 2006: 27(5):623-30.
- López Sastre JB, Coto Cotallo D, Fernández Colomer B. Grupo de Hospitales Castrillo. «Neonatal sepsis of nosocomial origin: an epidemiological study from the "Grupo de Hospitales Castrillo".» *J Perinat Med*, 2002: 30(2):149-57.
- López Sastre JB, Coto Cotallo GD, Fernández Colomer B. Grupo de Hospitales Castrillo. «Neonatal sepsis of vertical transmission: an epidemiological study from the "Grupo de Hospitales Castrillo".» *J Perinat Med*, 2000: 28(4):309-15.
- López Sastre JB, Fernández Colomer B, Coto Cotallo GD, Ramos Aparicio A. Grupo de Hospitales Castrillo. «Trends in the epidemiology of neonatal sepsis of vertical

- transmission in the era of group B streptococcal prevention.» *Acta Paediatr*, 2005: 94(4):451-7.
- Lutsar I, Trafojer UM, Heath PT, Metsvaht T, Standing J, Esposito S, de Cabre VM, Oeser C, Aboulker JP, Consortium NeoMero. «Meropenem vs standard of care for treatment of late onset sepsis in children of less than 90 days of age: study protocol for a randomised controlled trial.» *Trials*, 2011: 12:215.
- Lynch HJ, Wurtman RJ, Moskowitz MA. «Daily rhythm in human urinary melatonin.» *Science*, 1975: 187:169.
- Ma X, Idle JR, Krausz KW, González FJ. «Metabolism of melatonin by human cytochromes p450.» *Drug Metab Dispos*, 2005: 33:489-494.
- Maestroni GJ, Conti A, Pierpaoli W. «Role of the pineal gland in immunity. Circadian synthesis and release of melatonin modulates the antibody response and antagonizes the immunosuppressive effect of corticosterone.» *J Neuroimmunol*, 1986: 13(1):19-30.
- Malloy MH. «Impact of cesarean section on neonatal mortality rates among very preterm infants in the United States, 2000-2003.» *Pediatrics*, 2008: 122(2):285-92.
- Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, Browne R. «The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells.» *J Pediatr*, 1979: 95(1):89-98.
- Mantagos S, Moustogiannis A, Makri M, Vagenakis A. «The effect of light on plasma melatonin levels in premature infants.» *J Pediatr Endocrinol Metab*, 1996: 9(3):387-92.
- Manzoni P, Mostert M, Galletto P, Gastaldo L, Gallo E, Agriesti G, Farina D. «Is thrombocytopenia suggestive of organism-specific response in neonatal sepsis?» *Pediatr Int*, 2009: 51(2):206-10.
- Marriott I, Huet-Hudson YM. «Sexual dimorphism in innate immune responses to infectious organisms.» *Immunol Res*, 2006: 34(3):177-92.
- Marseglia L, Aversa S, Barberi I, Salpietro CD, Cusumano E, Speciale A, Saija A, Romeo C, Trimarchi G, Reiter RJ, Gitto E. «High endogenous melatonin levels in critically ill children: a pilot study.» *J Pediatr*, 2013: 162(2):357-60.
- Martin H, Olander B, Norman M. «Reactive hyperemia and interleukin 6, interleukin 8, and tumor necrosis factor-alpha in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis.» *Pediatrics*, 2001: 108(4):E61.

- Martius JA, Roos T, Gora B, Oehler MK, Schrod L, Papadopoulos T, Gross U. «Risk factors associated with early-onset sepsis in premature infants.» *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1999; 85(2):151-8.
- May M, Daley AJ, Donath S, Isaacs D, Australasian Study Group for Neonatal Infections. «Early onset neonatal meningitis in Australia and New Zealand, 1992-2002.» *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2005; 90(4):F324-7.
- McCord CP, Allen FP. «Evidences associating pineal gland function of alterations in pigmentation.» *J Exptl Zool*, 1917; 23:207.
- Mediavilla MD, Sanchez-Barcelo EJ, Tan DX, Manchester L, Reiter RJ. «Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin.» *Curr Med Chem*, 2010; 17(36): 4462-4481.
- Miano S, Ferri R. «Epidemiology and management of insomnia in children with autistic spectrum disorders.» *Paediatr Drugs*, 2010; 12(2):75-84.
- Mistraletti G, Sabbatini G, Taverna M, Figini MA, Umbrello M, Magni P, Ruscica M, Dozio E, Esposti R, DeMartini G, Frascini F, Rezzani R, Reiter RJ, Iapichino G. «Pharmacokinetics of orally administered melatonin in critically ill patients.» *J Pineal Res*, 2010; 48(2):142-7.
- Molina Carballo A, Muñoz Hoyos A, Uberos Fernández J, Acuña Castroviejo D, Molina Font JA. «Funcionalismo pineal (tasas de melatonina) en niños sanos de diferentes edades. Actualidad e interés del estudio de la glándula pineal en pediatría.» *An Esp Pediatr*, 1996; 45:33-44.
- Molina-Carballo A, Muñoz-Hoyos A, Reiter RJ, Sánchez-Forte M, Moreno-Madrid F, Rufo-Campos M, Molina-Font JA, Acuña-Castroviejo D. «Utility of high doses of melatonin as adjunctive anticonvulsant therapy in a child with severe myoclonic epilepsy: two years' experience.» *J Pineal Res*, 1997; 23(2):97-105.
- Molina-Carballo A, Muñoz-Hoyos A, Sánchez-Forte M, Uberos-Fernández J, Moreno-Madrid F, Acuña-Castroviejo D. «Melatonin increases following convulsive seizures may be related to its anticonvulsant properties at physiological concentrations.» *Neuropediatrics*, 2007; 38(3):122-5.
- Morgan PJ, Barrett P, Howell HE, Helliwell R. «Melatonin receptors: Localization, molecular pharmacology and physiological significance.» *Neurochem int*, 1994; 24(2):101-46.
- Mouzinho A, Rosenfeld CR, Sánchez PJ, Risser R. «Revised reference ranges for circulating neutrophils in very-low-birth-weight neonates.» *Pediatrics*, 1994; 94(1):76-82.
- Mundigler G, Delle-Karth G, Koreny M, Zehetgruber M, Steindl-Munda P, Marktl W, Ferti L, Siostrzonek P. «Impaired circadian rhythm of melatonin secretion in

- sedated critically ill patients with severe sepsis.» *Crit Care Med*, 2002: 30(3):536-40.
- Munson DA, Evans JR. «Health care-acquired infections.» En *Avery's diseases of the newborn. Ninth edition*, de Devaskar SU Gleason CA, 551-564. Philadelphia: Elsevier, 2012.
- Muñoz- Hoyos A, Molina A, Ruíz C. «Anatomía de la glándula pineal.» En *Melatonina. Realidad actual y posibilidades futuras en pediatría.*, de Molina Carballo A, Molina Font JA, Fernández García JM, Acuña Castroviejo D Muñoz-Hoyos A, 31-57. Alcalá La Real (Jaén): Formación Alcalá, 2002.
- Muñoz-Hoyos A, Bonillo-Perales A, Avila-Villegas R, González-Ripoll M, Uberos J, Florido-Navío J, Molina-Carballo A. «Melatonin levels during the first week of life and their relation with the antioxidant response in the perinatal period.» *Neonatology*, 2007: 92(3):209-16.
- Muñoz-Hoyos A, Rodríguez-Cabezas T, Molina-Carballo A, Martínez-Sempere JJ, Ruiz-Cosano C, Acuña-Castroviejo D. «Melatonin concentration in the umbilical artery and vein in human preterm and term neonates and neonates with acute fetal distress.» *J Pineal Res*, 1992: 13(4):184-91.
- Muñoz-Hoyos A, Sánchez-Forte M, Molina-Carballo A, Escames G, Martín-Medina E, Reiter RJ, Molina-Font JA, Acuña-Castroviejo D. «Melatonin's role as an anticonvulsant and neuronal protector: experimental and clinical evidence.» *J Child Neurol*, 1998: 13(10):501-9.
- Murcia Garcia J, Muñoz Hoyos A, Molina Carballo A, Fernández García JM, Narbona López E, Uberos Fernández J. «Pubertad y melatonina.» *An Esp Pediatr*, 2002: 57(2): 121-6.
- Murphy K, Weiner J. «Use of leukocyte counts in evaluation of early-onset neonatal sepsis.» *Pediatr Infect Dis J*, 2012: 31(1):16-9.
- Naguib M, Gottumukkala V, Goldstein PA. «Melatonin and anesthesia: a clinical perspective.» *J Pineal Res*, 2007: 42(1):12-21.
- Neal PR, Kleiman MB, Reynolds JK, Allen SD, Lemons JA, Yu PL. «Volume of blood submitted for culture from neonates.» *J Clin Microbiol*, 1986: 24(3): 353–356.
- Oeser C, Lutsar I, Metsvaht T, Turner MA, Heath PT, Sharland M. «Clinical trials in neonatal sepsis.» *J Antimicrob Chemother*, 2013: 68(12):2733-45.
- Okatani Y, Okamoto K, Hayashi K, Wakatsuki A, Tamura S, Sagara Y. «Maternal-fetal transfer of melatonin in pregnant women near term.» *J Pineal Res*, 1998: 25(3):129-34.

- Olofsson K, Alling C, Lundberg D, Malmros C. «Abolished circadian rhythm of melatonin secretion in sedated and artificially ventilated intensive care patients.» *Acta Anaesthesiol Scand*, 2004: 48(6):679-84.
- Owens JA, Rosen CL, Mindell JA. «Medication use in the treatment of pediatric insomnia: results of a survey of community-based pediatricians.» *Pediatrics*, 2003: 111(5 Pt 1):e628-35.
- Palm L, Blennow G, Wetterberg L. «Long-term melatonin treatment in blind children and young adults with circadian sleep-wake disturbances.» *Dev Med Child Neurol*, 1997: 39(5):319-325.
- Paprocka J, Dec R, Jamroz E, Marszał E. «Melatonin and childhood refractory epilepsy - a pilot study.» *Med Sci Monit*, 2010: 16(9):CR389-96.
- Peled N, Shorer Z, Peled E, Pillar G. «Melatonin effect on seizures in children with severe neurologic deficit disorders.» *Epilepsia*, 2001: 42(9):1208-10.
- Perras B, Kurowski V, Dodt C. «Nocturnal melatonin concentration is correlated with illness severity in patients with septic disease.» *Intensive Care Med*, 2006: 32(4):624-5.
- Perras B, Meier M, Dodt C. «Light and darkness fail to regulate melatonin release in critically ill humans.» *Intensive Care Med*, 2007: 33(11):1954-8.
- Pillar G, Shahar E, Peled N, Ravid S, Lavie P, Etzioni A. «Melatonin improves sleep-wake patterns in psychomotor retarded children.» *Pediatr Neurol*, 2000: 23(3):225-228.
- Polin JI, Knox I, Baumgart S, Campman E, Mennuti MT, Polin RA. «Use of umbilical cord blood culture for detection of neonatal bacteremia.» *Obstet Gynecol*, 1981: 57(2):233-7.
- Polin RA, Committee on Fetus and Newborn. «Management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis.» *Pediatrics*, 2012: 129(5):1006-15.
- Radogna F, Diederich M, Ghibelli L. «Melatonin: A pleiotropic molecule regulating inflammation.» *Biochem Pharmacol*, 2010: 80(12):1844-52.
- Rahman SA, Kayumov L, Tchmoutina EA, Shapiro CM. «Clinical efficacy of dim light melatonin onset testing in diagnosing delayed sleep phase syndrome.» *Sleep Med*, 2009: 10(5):549-55.
- Ramon y Cajal. *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*. Madrid: Moya, 1904.
- Reiter RJ. «Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions.» *Endocr Rev*, 1991: 12:151-180.

- Reiter RJ. «Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions.» *Endocr Rev*, 1991: 12:151-180.
- Reiter RJ. «The mammalian pineal gland: structure and function.» *Am J Anat*, 1981: 162:287-313.
- Reiter RJ. «The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals.» *Endocrine reviews*, 1980: 1(2):109-131.
- Reiter RJ, Blask DE, Talbot JA, Barnett MP. «Nature and the time course of seizures associated with surgical removal of the pineal gland from parathyroidectomized rats.» *Exp Neurol*, 1973: 38(3):386-97.
- Reiter RJ, DX Tan. «What constitutes a physiological concentration of melatonin?.» *J Pineal Res*, 2003: 34:79-80.
- Reiter RJ, Hurlbut EC, Brainard GC, Steinlechner S, Richardson BA. «Influence of light irradiance on hydroxyindole-O-metiltransferase activity, serotonin-N-acetyltransferase activity, and radioimmunoassayable melatonin levels in the pineal gland of the diurnally active Richardson's ground squirrel.» *Brain Res*, 1983: 288(1-2):151-7.
- Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggele B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, Acuña-Castroviejo D. «A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant.» *J Pineal Res*, 1995: 18(1):1-11.
- Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan DX. «Reducing oxidative/nitrosative stress: A newly-discovered genre for melatonin.» *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2009: 44(4):175-200.
- Reppert SM, Godson C, Mahle CD, Weaver DR, Slaugenhaupt SA, Gusella JF. «Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: The Mel1b melatonin receptor.» *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995: 92:8734-8738.
- Rey C, Los Arcos M, Concha A, Medina A, Prieto S, Martínez P, Prieto B. «Procalcitonin and C-reactive protein as markers of systemic inflammatory response syndrome severity in critically ill children.» *Intensive Care Med*, 2007: 33(3):477-84.
- Reyna-Figueroa J, Yuri-Toala E, Ortiz-Ibarra FJ, Rodríguez-Ramírez E, Limón-Rojas AE. «Disparidad en los criterios para incluir pacientes con sepsis neonatal en estudios médicos científicos. ¿Nadamos en un mar sin límites?» *An Pediatr (Barc)*, 2006: 65(6):536-40.
- Riley CA, Boozer K, King TL. «Antenatal corticosteroids at the beginning of the 21st century.» *J Midwifery Womens Health*, 2011: 56(6):591-7.

- Rite Gracia S, Fernández Lorenzo JR, Echániz Urcelay I, Botet Mussons F, Herranz Carrillo G, Moreno Hernando J, Salguero García E, Sánchez Luna M. «Niveles asistenciales y recomendaciones de mínimos para la atención neonatal.» *An Pediatr (Barc)*, 2013; 79(1):51.e1-51.e11.
- Robinson DP, Lorenzo ME, Jian W, Klein SL. «Elevated 17 β -estradiol protects females from influenza A virus pathogenesis by suppressing inflammatory responses.» *PLoS Pathog*, 2011; 7(7):e1002149.
- Rodríguez C, Mayo JC, Sainz R, Antolín I, Herrera F, Martín V, Reiter RJ. «Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin.» *J Pineal Res*, 2004; 36(1):1-9.
- Romero R, Quintero R, Oyarzun E, Wu YK, Sabo V, Mazor M, Hobbins JC. «Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes.» *Am J Obstet Gynecol*, 1988; 159(3):661-6.
- Romero R, Quintero R, Oyarzun E, Wu YK, Sabo V, Mazor M, Hobbins JC. «Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes.» *Am J Obstet Gynecol*, 1988; 159(3):661-6.
- Romero R, Quintero R, Oyarzun E, Wu YK, Sabo V, Mazor M, Hobbins JC. «Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes.» *Am J Obstet Gynecol*, 1988; 159(3):661-6.
- Sack RL, Auckley D, Auger RR, Carskadon MA, Wright KP Jr, Vitiello MV, Zhdanova IV, y American Academy of Sleep Medicine. «Circadian rhythm sleep disorders: part II, advanced sleep phase disorder, delayed sleep phase disorder, free-running disorder, and irregular sleep-wake rhythm. An American Academy of Sleep Medicine review.» *Sleep*, 2007; 30(11):1484-501.
- Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer WM, Singer CM. «Human melatonin production decreases with age.» *J Pineal Res*, 1986; 3:379-88.
- Samarkandi A, Naguib M, Riad W, Thalaj A, Alotibi W, Aldammas F, Albassam A. «Melatonin vs. midazolam premedication in children: a double-blind, placebo-controlled study.» *Eur J Anaesthesiol*, 2005; 22(3):189-96.
- Sanchez-Barcelo EJ, Mediavilla MD, Reiter RJ. «Clinical uses of melatonin in pediatrics.» *Int J Pediatr*, 2011; 2011:892624.
- Sanderud J, Bjørø K, Saugstad OD. «Oxygen radicals stimulate thromboxane and prostacyclin synthesis and induce vasoconstriction in pig lungs.» *Scand J Clin Lab Invest*, 1993; 53(5):447-55.
- Sandyk R, Tsagas N, Anninos PA. «Melatonin as a proconvulsive hormone in humans.» *Int J Neurosci*, 1992; 63(1-2):125-35.

- Saracz J, Rosdy B. «Effect of melatonin on intractable epilepsies.» *Orv Hetil*, 2004: 145(51):2583-7.
- Saugstad OD. «Oxidative stress in the newborn--a 30-year perspective.» *Biol Neonate*, 2005: 88(3):228-36.
- Schelonka RL, Chai MK, Yoder BA, Hensley D, Brockett RM, Ascher DP. «Volume of blood required to detect common neonatal pathogens.» *J Pediatr*, 1996: 129(2):275-8.
- Schelonka RL, Yoder BA, desJardins SE, Hall RB, Butler J. «Peripheral leukocyte count and leukocyte indexes in healthy newborn term infants.» *J Pediatr*, 1994: 125(4):603-6.
- Schmidt CM, Knief A, Deuster D, Matulat P, am Zehnhoff-Dinnesen AG. «Melatonin is a useful alternative to sedation in children undergoing brainstem audiometry with an age dependent success rate--a field report of 250 investigations.» *Neuropediatrics*, 2007: 38(1):2-4.
- Schmutz N, Henry E, Jopling J, Christensen RD. «Expected ranges for blood neutrophil concentrations of neonates: the Manroe and Mouzinho charts revisited.» *J Perinatol*, 2008: 28(4):275-81.
- Schrag SJ, Verani JR. «Intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of perinatal group B streptococcal disease: Experience in the United States and implications for a potential group B streptococcal vaccine.» *Vaccine*, 2012: S0264-410X(12)01697-0.
- Schuchat A1, Zywicki SS, Dinsmoor MJ, Mercer B, Romaguera J, O'Sullivan MJ, Patel D, Peters MT, Stoll B, Levine OS. «Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study.» *Pediatrics*, 2000: 105(1 Pt 1):21-6.
- Seema, Kumar R, Mandal RN, Tandon A, Randhawa VS, Mehta G, Batra S, Ray GN, Kapoor AK. «Serum TNF-alpha and free radical scavengers in neonatal septicemia.» *Indian J Pediatr*, 1999: 66(4):511-6.
- Seong HS, Lee SE, Kang JH, Romero R, Yoon BH. «The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor.» *Am J Obstet Gynecol*, 2008: 199(4):375.
- Serón-Ferré M, Torres-Farfán C, Forcelledo ML, Valenzuela GJ. «The development of circadian rhythms in the fetus and neonate.» *Semin Perinatol*, 2001: 25(6):363-70.
- Shaji AV, Kulkarni SK, Agrewala JN. «Regulation of secretion of IL-4 and IgG1 isotype by melatonin-stimulated ovoalbumin-specific T cells.» *Clin Exp Immunol*, 1998: 111:181-5.

- Shek DT, Ma CS,. «Longitudinal data analyses using linear mixed models in SPSS: concepts, procedures and illustrations.» *Scientific World Journal*, 2011: 11:42-43.
- Shein HM, Wurtman RJ. «Cyclic adenosine monophosphate: Stimulation of melatonin and serotonin synthesis in cultured rat pineals.» *Science*, 1969: 166:519.
- Shek DT, Ma CS,. «Longitudinal data analyses using linear mixed models in SPSS: concepts, procedures and illustrations.» *Scientific World Journal*, 2011: 11:42-76.
- Sheldon SH. «Pro-convulsant effects of oral melatonin in neurologically disabled children.» *Lancet*, 1998: 25;351(9111):1254.
- Siegrist C, Benedetti C, Orlando A, Beltrán JM, Tuchscher L, Nosedá CM, Brusco LI, Cardinali DP. «Lack of changes in serum prolactin, FSH, TSH, and estradiol after melatonin treatment in doses that improve sleep and reduce benzodiazepine consumption in sleep-disturbed, middle-aged, and elderly patients.» *J Pineal Res*, 2001: 30(1):34-42.
- Silman R. «Melatonin and the human gonadotrophin-releasing hormone pulse generator.» *J Endocrinol*, 1991: 128(1):7-11.
- Sivan Y, Laudon M, Tauman R, Zisapel N. «Melatonin production in healthy infants: evidence for seasonal variations.» *Pediatr Res*, 2001: 49(1):63-8.
- Sliwinski T, Rosej W, Morawiec-Baida A, Morawiec Z, Reiter RJ, Blasiak J. «Protective action of melatonin against oxidative damage: Chemical inactivation versus base-excision repair.» *Mutat Res*, 2007: 634(1-2):220-227.
- Srinivasan V, Maestroni GJ, Cardinali DP, Esquifino AI, Pandi-Perumal SR, Miller SC. «Melatonin, immune function and aging.» *Immun Ageing*, 2005: 2:17-27.
- Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Spence DW, Kato H, Cardinali DP. «Melatonin in septic shock: some recent concepts.» *J Crit Care*, 2010: 25(4):656.e1-6.
- Stocker M, Fontana M, El Helou S, Wegscheider K, Berger TM. «Use of procalcitonin-guided decision-making to shorten antibiotic therapy in suspected neonatal early-onset sepsis: prospective randomized intervention trial.» *Neonatology*, 2010: 97(2):165-74.
- Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Lemons JA, Donovan EF, et al. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. «Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network.» *Pediatrics*, 2002: 110(2 Pt 1):285-91.

- Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, Lemons JA, Donovan EF, Stark AR, Tyson JE, Oh W, Bauer CR, Korones SB, Shankaran S, Laptook AR, Stevenson DK, Papile LA, Poole WK. «To tap or not to tap: high likelihood of meningitis without sepsis among very low birth weight infants.» *Pediatrics*, 2004: 113(5):1181-6.
- Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, Hale EC, Newman NS, Schibler K, Carlo WA, Kennedy KA, Poindexter BB, Finer NN, et al. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. «Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network.» *Pediatrics*, 2010: 126(3):443-56.
- Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, Faix RG, Poindexter BB, Van Meurs KP, Bizzarro MJ, Goldberg RN, Frantz ID 3rd, Hale EC, Shankaran S, Kennedy K, Carlo WA, et al. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development. «Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues.» *Pediatrics*, 2011: 127(5):817-26.
- Suprin E, Camus C, Gacouin A, Le Tulzo Y, Lavoue S, Feuillu A, Thomas R. «Procalcitonin: a valuable indicator of infection in a medical ICU?» *Intensive Care Med*, 2000: 26(9):1232-8.
- Szeinberg A, Borodkin K, Dagan Y. «Melatonin treatment in adolescents with delayed sleep phase syndrome.» *Clin Pediatr (Phila)*, 2006: 45(9):809-18.
- Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M, Hardeland R. «Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger.» *Curr Top Med Chem*, 2002: 2(2):181-97.
- Tauman R, Zisapel N, Laudon M, Nehama H, Sivan Y. «Melatonin Production in Infants: Association with perinatal factors and development.» *Pediatr Neurol*, 2002: 26:379-382.
- Tillett WS, Francis T. «Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus.» *J Exp Med*, 1930: 52(4):561-71.
- Tita AT, Andrews WW. «Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis.» *Clin Perinatol*, 2010: 37(2):339-54.
- Tomás-Zapico C, Coto-Montes A. «A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes.» *J Pineal Res*, 2005: 39(2):99-104.
- Tordjman S, Anderson GM, Pichard N, Charbuy H, Touitou Y. «Nocturnal excretion of 6-sulphatoxymelatonin in children and adolescents with autistic disorder.» *Biol Psychiatry*, 2005: 57(2):134-8.

- Turner D, Hammerman C, Rudensky B, Schlesinger Y, Goia C, Schimmel MS. «Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram.» *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, 2006: 91(4): F283–286.
- Uberos J, Augustin-Morales MC, Molina Carballo A, Florido J, Narbona E, Muñoz-Hoyos A. «Normalization of the sleep-wake pattern and melatonin and 6-sulphatoxy-melatonin levels after a therapeutic trial with melatonin in children with severe epilepsy.» *J Pineal Res*, 2011: 50(2):192-6.
- Ugarte H, Silva E, Mercan D, De Mendonça A, Vincent JL. «Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit.» *Crit Care Med*, 1999: 27(3):498-504.
- Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, Cucherat M, Perret GY. «Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis.» *Crit Care Med*, 2006: 34(7):1996-2003.
- Van der Heijden KB, Smits MG, Van Someren EJ, Ridderinkhof KR, Gunning WB. «Effect of melatonin on sleep, behavior, and cognition in ADHD and chronic sleep-onset insomnia.» *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2007: 46(2):233-41.
- Van Geijlswijk IM, Van der Heijden KB, Egberts AC, Korzilius H, Smits MC. «Dose finding of melatonin for chronic idiopathic childhood sleep onset insomnia: an RCT.» *Psychopharmacology (Berl)*, 2010: 212(3):379-391.
- Vanecek J. «Cellular mechanism of melatonin action.» *Physiol Rev*, 1998: 78(3):687-721.
- Vaneck J, Pavlik A, Illnerova H. «Hypothalamic melatonin receptor sites revealed by autoradiography.» *Brain Res*, 1987: 435:359-362.
- Verani JR, McGee L, Schrag SJ. Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). «Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010.» *MMWR Recomm Rep*, 2010: 59(RR-10):1-36.
- Vergnano S, Menson E, Kennea N, Embleton N, Russell AB, Watts T, Robinson MJ, Collinson A, Heath PT. «Neonatal infections in England: the NeonIN surveillance network.» *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2001: 96(1):F9-F14.
- Vijayalaxmi Thomas CR Jr, Reiter RJ, Herman TS. «Melatonin: From basic research to cancer treatment clinics.» *J Clin Oncol*, 2002: 20(10):2575-2601.
- Visser VE, Hall RT. «Urine culture in the evaluation of suspected neonatal sepsis.» *J Pediatr*, 1979: 94(4):635-8.

- Vollrath L. «Mammalian Pinealocytes: Ultrastructural aspects and innervation.» *Ciba Found Symp*, 1985: 117:9-22.
- Vouloumanou EK, Plessa E, Karageorgopoulos DE, Mantadakis E, Falagas ME. «Serum procalcitonin as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis.» *Intensive Care Med*, 2011: 37(5):747-62.
- Wakatsuki A, Okatani Y, Shinohara K, Ikenoue N, Kaneda C, Fukaya T. «Melatonin protects fetal rat brain against oxidative mitochondrial damage.» *J Pineal Res*, 2001: 30(1)22-8.
- Waldhauser F, Steger H. «Changes in melatonin secretion with age and pubescence.» *J Neural Transm Suppl*, 1986: 21:183-97.
- Waldhauser F, Weiszenbacher G, Frisch H, Zeitlhuber U, Waldhauser M, Wurtman RJ. «Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence.» *Lancet*, 1984: 1(8373):362-5.
- Wang IM, Jin BZ, Ai F, Duan CH, Lu YZ, Dong TF, Fu QL. «The efficacy and safety of melatonin in concurrent chemotherapy or radiotherapy for solid tumors: a meta-analysis of randomized controlled trials.» *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012: 69(5):1213-20.
- Washburn TC, Medearis DN, Childs B. «Sex differences in susceptibility to infections.» *Pediatrics*, 1965: 35:57-64.
- Weaver DR, Rivkees SA, Reppert SM. «Localization and characterization of melatonin receptors in rodent brain by in vitro autoradiography.» *J Neurosci*, 1989: 9:2581-2590.
- Weiss MD, Salpekar J. «Sleep problems in the child with attention-deficit hyperactivity disorder: defining aetiology and appropriate treatments.» *CNS Drugs*, 2010: 24(10):811-28.
- Weiss MD, Wasdell MB, Bomben MM, Rea KJ, Freeman RD. «Sleep hygiene and melatonin treatment for children and adolescents with ADHD and initial insomnia.» *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2006: 45(5):512-9.
- Weston EJ, Pondo T, Lewis MM, Martell-Cleary P, Morin C, Jewell B, Daily P, Apostol M, Petit S, Farley M, Lynfield R, Reingold A, Hansen NI, Stoll BJ, Shane AJ, Zell E, Schrag SJ. «The burden of invasive early-onset neonatal sepsis in the United States, 2005-2008.» *Pediatr Infect Dis J*, 2011: 30(11):937-41.
- Wilkinson M, Arendt J, Bradtke J, De Ziegler D. «determination of a dark-induced increase in pineal N-acetyltransferase activity and simultaneous radioimmunoassay of melatonin in pineal, serum and pituitary tissue of the male rat.» *J Endocrinol*, 1977: 72 (2):243-244.

- Williams LM, Morgan PJ. «Demonstration of melatonin-binding sites on the pars tuberalis of the rat.» *J Endocrinol*, 1988: 119:R1-3.
- Wurtman RJ, Axelrod J, Fischer JE. «Melatonin synthesis in the pineal gland: effect of light mediated by the sympathetic nervous system.» *Science*, 1963: 143:1328.
- Wurtman RJ, Roth W, Altschule MD, Wurtman JJ. «Interactions of the pineal and exposure to continuous light on organ weights of female rats.» *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1961: 36:617.
- Wurtman RJ, Shein HM, Larin F. «Mediation by adrenergic receptors of effect of norepinephrine on pineal synthesis of (14 C) serotonin and (14 C) melatonin.» *J Neurochem*, 1971: 18:1683.
- Yoon BH, Romero R, Moon JB, Shim SS, Kim M, Kim G, Jun JK. «Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes.» *Am J Obstet Gynecol*, 2001: 185(5):1130-6.
- Yu Q, Miller SC, Osmond DG. «Melatonin inhibits apoptosis during early B cell development in mouse bone marrow.» *J Pineal Res*, 2000: 29:86-93.
- Yuo JH, Carter LB, Reiter RJ, Jevtovic-Todorovic V. «Melatonin reduces the severity of anesthesia-induced apoptotic neurodegeneration in the developing rat brain.» *Neuro Biol Dis*, 2006: 40:71-78.
- Zandman-Goddard G, Peeva E, Shoenfeld Y. «Gender and autoimmunity.» *Autoimmun Rev*, 2007: 6(6):366-72.
- Zawilska JB, Skene DJ, Arendt J. «Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms.» *Pharmacol Rep*, 2009: 61(3): 383-410.
- Zhdanova IV, Wurtman RJ, Wagstaff J. «Effects of a low dose of melatonin on sleep in children with Angelman syndrome.» *J Pediatr Endocrinol Metab*, 1999: 12(1):57-67.

9. ANEXOS

9. ANEXOS

9.1. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Documento de Consentimiento Informado para el estudio de niveles de melatonina en recién nacidos con infecciones graves.

Hospital Sanitas La Moraleja

Información

La melatonina es una hormona endógena con un gran poder antioxidante y antiinflamatorio, entre otras muchas funciones orgánicas. El propósito de esta investigación es objetivar si en los recién nacidos con infecciones graves esta hormona está disminuida para en un futuro postular un tratamiento con dicha hormona. La intervención se llevará a cabo con muestras obtenidas de los pacientes. Se tomará la muestra de sangre periférica. Creemos que el estudio de la melatonina en los recién nacidos es importante para establecer un futuro tratamiento que podría mejorar la calidad de vida de nuestros pacientes.

La decisión de que su hijo participe en este estudio es completamente voluntaria. Si usted elige no consentir, todos los servicios que usted y su hijo reciban en este centro continuarán y nada cambiará.

La información recogida para este proyecto de investigación acerca de su hijo será confidencial y solo los investigadores podrán verla. Usted no tiene porqué aceptar que su hijo participe en este estudio, si no desea hacerlo y no quiere que participe, esto no afectará de forma alguna al tratamiento de su hijo en este centro. Usted y su hijo tendrán todos los beneficios que tendrían de otra forma. Usted puede retirar a su hijo de la investigación en cualquier momento que desee sin que usted o su hijo pierdan sus derechos como paciente.

Formulario de Consentimiento

He sido invitado para que mi hijo participe en una investigación sobre los niveles de melatonina. Soy consciente de que puede que no haya beneficio personal para mí o mi hijo y que no seré compensado.

He leído la información proporcionada, o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar dudas sobre ello y se me ha respondido satisfactoriamente.

Consiento voluntariamente que mi niño/a participe en este estudio y entiendo que tengo el derecho de retirar del estudio mi niño/a en cualquier momento sin que afecte de ninguna forma mi atención médica ni la de mi niño/a.

Nombre del Participante _____

Nombre del Padre/Madre _____

Firma del Padre/Madre

Fecha _____

Se ha proporcionado una copia de este documento de Consentimiento Informado al Padre / Madre del participante por parte de
_____ **(investigador/asistente).**

9.2. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

ESTUDIO “MELATONINA EN LAS INFECCIONES NEONATALES GRAVES”**** Entregar consentimiento informado antes de realizar el estudio****CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

1. Recién nacidos de edad menor o igual a 28 días de vida, tanto a término como pretérmino
2. **Con sospecha de sepsis** (aquellos que se vayan a poner antibioterapia que tengan signos clínicos y/o analíticos de infección. DEBEN CUMPLIR AL MENOS 2 SIGNOS CLÍNICOS DE SEPSIS)
3. Cuyos padres autorizan el estudio

SIGNOS CLÍNICOS (Subrayar los que tenga el niño)

- **Alteración en la temperatura corporal:** temperatura central mayor de 38,5 °C o menor de 36 °C Y/O inestabilidad térmica

- **Inestabilidad cardiovascular:**

Bradycardia (media de FC menor del percentil 10 para la edad en ausencia de estímulos vagales externos, betabloqueantes o cardiopatía congénita O descenso persistente inexplicable de otra manera durante un periodo de 30 minutos) O

Taquicardia (media de FC mayor de 2 DS de la media para la edad en ausencia de estímulos externos, drogas y estímulos dolorosos O ascenso persistente inexplicable de otra manera durante un periodo de 30 minutos a 4 horas) Y/O

Inestabilidad del ritmo cardíaco

Oligoanuria (menos de 1 mL/kg/h),

Hipotensión (tensión arterial media por debajo del percentil 5 para la edad),

Piel parcheada,

Alteración de la perfusión periférica

- **Lesiones cutáneas y subcutáneas:** exantema petequiral, esclerema.

- **Inestabilidad respiratoria:**

Episodios de apnea O

Taquipnea (frecuencia respiratoria media por encima de 2 DS de la media para la edad) O

Aumento de las necesidades de oxígeno O

Necesidad de soporte respiratorio

- **Síntomas gastrointestinales:**

Intolerancia alimentaria

Succión pobre

Distensión abdominal

- **Signos inespecíficos:**

Irritabilidad

Letargia

Hipotonía

DATOS DE INTERÉS:

DATOS EPIDEMIOLÓGICOS:

Fecha de nacimiento: _____ Hora de Nacimiento: _____ Edad Gestacional: _____

Peso al nacimiento _____

Parto: eutócico/instrumental/ cesárea Bolsa rota: _____ horas Fiebre materna: _____

Reanimación: _____. Apgar : _____ pH cordón: _____ Corticoides prenatales: _____

	<u>Dco</u>	<u>12 horas</u>	<u>24 horas</u>	<u>48 horas</u>	<u>7 días</u>
Fecha					
Hora					
Días de vida					
Peso					
Shock séptico ¹					
Fracaso Multiorgánico ²					
Soporte respiratorio/FiO2					
pH/Láctico					
Leucocitos/Neutrófilos					
Indice Infeccioso					
PCR/PCT					
MELATONINA					

¹**Shock séptico:** hipotensión arterial o hipoperfusión con necesidad de expansión de volumen o inotrópicos

²**Fracaso Multiorgánico:** Fracaso de 2 o más órganos (cardiocirculatorio, renal, hepático, SNC, coagulopatía o distrés respiratorio).

Hemocultivo: _____ Cultivo de LCR: _____

9.3. TABLAS DE DATOS RECOGIDOS

Tabla 9.1. DATOS CLÍNICOS DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	EG (semanas)	Edad al diagnóstico (días)	Peso (gramos)	Soporte respiratori o	FiO2 (%)	Shock	Fracaso multiorgánico
Caso 1	31,85	2	1884	VMC	70	Sí	No
Caso 2	32,28	0	2190	VAFO	100	Sí	Sí
Caso 3	39,85	3				Sí	No
Caso 4	40,28	2	3180	CPAP	21	No	No
Caso 5	37,14	14	4420	CPAP	21	No	No
Caso 6	38,14	1	2515	No	21	No	No
Caso 7	40	1	3040	GN	25	No	No
Caso 8	35,42	1	2985	VMC	30	No	No
Caso 9	39,85	10	4200	No	21	No	No
Caso 10	27,85	22	1216	GN	21	No	No
Caso 11	39,85	16	3470	No	21	No	No
Caso 12	25	7	552	VMC	40	Sí	No
Caso 13	25,71	7	915	CPAP	25	No	No
Caso 14	35,57	1	1995	GN	30	No	No
Caso 15	25,71	26	1368	GN	21	No	No
Caso 16	25	28	1198	VMC	45	No	No
Caso 17	31,57	1	1643	CPAP	30	No	No
Caso 18	28,71	27	1285	CPAP	30	No	No
Caso 19	30	20	1044	GN	30	No	No
Caso 20	35,42	7	2420	No	21	No	No
Caso 21	40,57	13	3600	No	21	No	No
Caso 22	40	4	3360	No	21	No	No
Caso 23	34,57	1	2510	CPAP	21	No	No
Caso 24	24,28	5	632	VMC	100	Sí	Sí
Caso 25	37,71	5	2530	VMC	50	Sí	Sí
Caso 26	39,85	2	3590	GN		No	No
Caso 27	33,85	0	2325	VMC	35	No	No
Caso 28	39,14	13	2970	No	21	No	No
Caso 29	38,57	1	3050	GN		No	No
Caso 30	26	6	770	VMC	24	No	No
Caso 31	40,14	2	3300	No	21	No	No
Caso 32	37,57	2	2765	No	21	No	No

Soporte Respiratorio* (GN= Oxigenoterapia en Gafas Nasaes; CPAP= Presión Positiva Continua en la vía aérea; VMC=Ventilación Mecánica Convencional; VAFO= Ventilación mecánica de Alta Frecuencia.)

Tabla 9.2. DATOS ANALÍTICOS DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	pH	Láctico (mmol/L)	Leucocitos	Neutrófilos	PCR (mg/L)	PCT (ng/ml)
Caso 1	7,3	0,8	8.200	4.300	29.22	6.13
Caso 2	7	15	9.400	200	33.58	38.8
Caso 3						
Caso 4	7,4	4,1	18.900	13.100	89	6.83
Caso 5	7,3	0,9	22.400	14.500	46.45	1.62
Caso 6		2,7	44.400	28.900	3.47	17.13
Caso 7	7,2	3,9	26.200	16.800	31.27	1.79
Caso 8	7,2	2,4	14.200	8.400	0.62	4.25
Caso 9	7,3	8,4	30.700	24.300	81.86	39.68
Caso 10	7,3	1,7	21.100	11.600	49.2	23.47
Caso 11	7,3	4,6	2.600	900	61.6	16.75
Caso 12	7,2	0,9	12.300	5.900	0.89	0.89
Caso 13	7,4	1,3	32.500	19.200	1.32	0.53
Caso 14	7,3	2,5	24.300	14.800	5.89	43.05
Caso 15	7,4	1,6	3.400	2.000	9.31	3.45
Caso 16	7,3	2,7	14.800	9.900	54.38	6.19
Caso 17	7,4	4,5	9.000	3.300	38.06	47.96
Caso 18	7,3	1,5	10.000	8.100	8.31	0.92
Caso 19	7,2	2,8	11.500	9.300	36.87	44.2
Caso 20	7,4	2,3	6.500	2.200	18.41	30.34
Caso 21	7,4	2,3	13.900	5.800	0.69	0.05
Caso 22	7,4	2,8	9.600	4.600	11.8	0.3
Caso 23	7,3	2,5	18.100	12.600	2.08	0.23
Caso 24	7,2	3	6.700	800	2.55	9.2
Caso 25	7,3	9,4	8.000	3.400	38.53	10.67
Caso 26	7,3	3,3	23.000	14.200	69	6.87
Caso 27	7,3	3,5	21.000	8.000	0.19	0.13
Caso 28	7,3	2,5	10.800	7.400	4.19	0.89
Caso 29	7,4	2	25.100	18.200	2.78	48.35
Caso 30	7,4	1,3	14.200	7.400	0.37	0.5
Caso 31	7,5	2,5	8.400	3.200	10.85	6.46
Caso 32	7,4	1,3	8.400	3.200	2.89	4.85

Tabla 9.3. DATOS CLÍNICOS A LAS 12 HORAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	EG corregida (semanas)	Peso (gramos)	Soporte respiratorio	FiO2 (%)	Shock	Fracaso multiorgánico
Caso 1						
Caso 2	<i>Exitus</i>					
Caso 3					Sí	No
Caso 4	40,57	3180	CPAP	21	No	No
Caso 5	40,71	4350	CPAP	21	No	No
Caso 6	38,28	2515	No	21	No	No
Caso 7					No	No
Caso 8	35,57	2950	VMC	25	No	No
Caso 9	41,42	4200	No	21	No	No
Caso 10	31	1216	GN	30	No	No
Caso 11	42,14	3470	No	21	No	No
Caso 12	26	552	VMC	50	Sí	Sí
Caso 13					No	No
Caso 14					No	No
Caso 15	31,85	1368	GN	21	No	No
Caso 16	30,42	1198	VMC	30	No	No
Caso 17	31,71	1643	CPAP	33	No	No
Caso 18	33	1300	CPAP	28	No	No
Caso 19	32,85	1044	GN	25	No	No
Caso 20	36,57	2420	No	21	No	No
Caso 21	42,42	3600	No	21	No	No
Caso 22	40,57	3360	No	21	No	No
Caso 23	34,71	2510	GN	21	No	No
Caso 24	25	632	VAFO	65	Sí	Sí
Caso 25	38,42	2530	VMC	40	Sí	Sí
Caso 26	40,14	3500	GN		No	No
Caso 27	33,85	2325	VMC	30	No	Sí
Caso 28	41	2970	No	21	No	No
Caso 29	38,85	3200	VMC	90	No	No
Caso 30	27	780	CPAP	25	No	No
Caso 31	40,57	3300	No	21	No	No
Caso 32	38	2730	No	21	No	No

Soporte Respiratorio* (GN= Oxigenoterapia en Gafas Nasaes; CPAP= Presión Positiva Continua en la vía aérea; VMC=Ventilación Mecánica Convencional; VAFO= Ventilación mecánica de Alta Frecuencia.)

Tabla 9.4. DATOS ANALÍTICOS A LAS 12 HORAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	pH	Láctico (mmol/L)	Leucocitos	Neutrófilos	PCR (mg/L)	PCT (ng/ml)
Caso 1						
Caso 2	<i>Exitus</i>					
Caso 3						
Caso 4	7,42	1,5	14700	10600	30,44	3,84
Caso 5	7,34	1,1	26000	16200	139,99	2,74
Caso 6			28700	17900	1,93	14,08
Caso 7						
Caso 8	7,44	4,5	7300	4600	16,37	15,81
Caso 9	7,34	3,4	28800	18800	147,35	41,23
Caso 10	7,31	1,9	22200	10800	91,77	22,59
Caso 11	7,39	1,5	20000	10200	134,67	175,84
Caso 12	7,34	1				
Caso 13						
Caso 14						
Caso 15	7,36	1,4	16300	10700	51,44	39,35
Caso 16	7,43	2,4	21500	14400	44,33	4,94
Caso 17	7,3	3,4	9400	2700	25,53	43,72
Caso 18	7,3	0,8	7900	3900	18,55	1,97
Caso 19	7,35	1,2	12600	7800	93,19	68,4
Caso 20	7,29	3,1	26900	15900	35,4	
Caso 21	7,33	1,5	11100	5900	0,71	0,05
Caso 22	7,39	3,1	9000	3400	12,31	0,15
Caso 23	7,29	1,5	20600	3300	2,5	
Caso 24	7,33	3,5	8100	1400	6,54	22,08
Caso 25	7,34	2,8	5800	2300	52,62	18,32
Caso 26	7,27	3,1	21400	14300	42,41	4,73
Caso 27	7,35	2,9	14800	7800	0,85	2,79
Caso 28	7,35	2,2	5400	2800	2,37	1,13
Caso 29	7,17	1,5	15900	11400	4,31	49,65
Caso 30	7,38	1				
Caso 31	7,41	1,4	8300	2400	7,21	3,49
Caso 32			8200	2900	3,24	1,88

Tabla 9.5. DATOS CLÍNICOS A LAS 24 HORAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	EG corregida (semanas)	Peso (gramos)	Soporte respiratorio	FiO2 (%)	Shock	Fracaso multiorgánico
Caso 1						
Caso 2	<i>Exitus < 12h</i>					
Caso 3	32,85	3240	GN	30	Sí	No
Caso 4	40,71	3209	GN	30	No	No
Caso 5	40,71	4350	CPAP	21	No	No
Caso 6	38,42	2450	No	21	No	No
Caso 7	40,28	3005	GN	70	No	No
Caso 8	35,57	2950	VMC	25	No	No
Caso 9	41,42	4295	No	21	No	No
Caso 10	31,14	1240	GN	25	No	No
Caso 11	42,28	3630	No	21	No	No
Caso 12	26,14	562	VMC	50	Sí	Sí
Caso 13					No	No
Caso 14					No	No
Caso 15	32	1393	GN	21	No	No
Caso 16	32,57	1175	VMC	26	No	No
Caso 17	31,85	1590	CPAP	30	No	No
Caso 18	33	1300	CPAP	23	No	No
Caso 19	33	1044	GN	21	No	No
Caso 20	36,71	2,49	No	21	No	No
Caso 21	42,57	3810	No	21	No	No
Caso 22					No	No
Caso 23	34,85	2425	GN	21	No	No
Caso 24	25,14	656	VAFO	67	Sí	Sí
Caso 25	38,57	2530	VMC	25	Sí	No
Caso 26	40,28		GN		No	No
Caso 27	34	2390	VMC	30	No	No
Caso 28	41,14	3020	No	21	No	No
Caso 29	38,85	3200	VAFO	60	Sí	Sí
Caso 30	27	780	CPAP	21	No	No
Caso 31	40,57	3320	No	21	No	No
Caso 32	38	2730	No	21	No	No

Soporte Respiratorio* (GN= Oxigenoterapia en Gafas Nasaes; CPAP= Presión Positiva Continua en la vía aérea; VMC=Ventilación Mecánica Convencional; VAFO= Ventilación mecánica de Alta Frecuencia.)

Tabla 9.6. DATOS ANALÍTICOS A LAS 24 HORAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	pH	Láctico (mmol/L)	Leucocitos	Neutrófilos	PCR (mg/L)	PCT (ng/ml)
Caso 1						
Caso 2	<i>Exitus < 12h</i>					
Caso 3	7,36	3,4	39900	30723	107,24	171,18
Caso 4	7,44	1,5	11900	7700	21,1	1,28
Caso 5	7,29	1	20500	12000	124,72	1,79
Caso 6	7,36	2,8	29600	16300	1,1	6,19
Caso 7	7,3	2,6	14400	8200	22,37	0,82
Caso 8	7,43	3,1	4200	2200	30,53	8,39
Caso 9			27500	17100	133,48	32,19
Caso 10	7,35	0,7	24100	11000	80,26	16,57
Caso 11	7,47	1,7	24200	12800	108	90
Caso 12	7,36	0,9			0,79	1,64
Caso 13						
Caso 14						
Caso 15	7,31	0,5	13700	6570	46,41	30,38
Caso 16	7,34	1,8	30100	20800	109,2	3,12
Caso 17	7,29	3,1	10200	3500	18,95	32,65
Caso 18	7,4	0,6	10100	3600	10,95	1,44
Caso 19	7,42	1,2	15800	9800	100,7	41,87
Caso 20	7,43	1,9	21800	11800	30,06	31,8
Caso 21	7,32	1,2	9600	6200	3,26	0,12
Caso 22						
Caso 23	7,25	2,5	10500	6200	2,79	3,03
Caso 24	7,22	3,5	9100	1600	8,07	11,31
Caso 25	7,28	3,9	14200	5400	146,9	18,3
Caso 26	7,38	1,4	17100	11800	29,7	2,28
Caso 27	7,31	3,1	10900	7700	1,28	3,53
Caso 28	7,38	1,7	6100	2600	1,81	1,11
Caso 29	7,28	2,1	14400	10100	12,82	44,17
Caso 30	7,34	1,2			0,62	
Caso 31	7,37	1,2	6700	2600	5,15	2,04
Caso 32	7,35	1,4	6600	1900	1,53	0,69

Tabla 9.7. DATOS CLÍNICOS A LAS 48 HORAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	EG corregida (semanas)	Peso (gramos)	Soporte respiratorio	FiO2 (%)	Shock	Fracaso multiorgánico
Caso 1						
Caso 2	Exitus <12h					
Caso 3		3320	GN	25	Sí	No
Caso 4	40,85		No	21	No	No
Caso 5	40,85	4335	CPAP	21	No	No
Caso 6	38,57	2400	No	21	No	No
Caso 7	40,42	3090	GN	70	No	No
Caso 8	35,71	2925	CPAP	40	No	No
Caso 9	41,57	4250	No	21	No	No
Caso 10	31,28	1270	GN	21	No	No
Caso 11	42,42	3610	No	21	No	No
Caso 12	26,28	580	VMC	60	Sí	Sí
Caso 13	27,14	956	CPAP	36	No	No
Caso 14	36	2000	GN	23	No	No
Caso 15	32,14	1426	GN	21	No	No
Caso 16	32,71	1177	VMC	21	No	No
Caso 17	32	1534	CPAP	21	No	No
Caso 18	33,14	1325	CPAP	31	No	No
Caso 19	33,14	1053	No	21	No	No
Caso 20	36,85	2530	No	21	No	No
Caso 21	42,71	3880	No	21	No	No
Caso 22	40,71	3290	No	21	No	No
Caso 23	35	2485	GN	21	No	No
Caso 24	Exitus 48 h					
Caso 25	38,71	2530	VMC	30	Sí	No
Caso 26	40,42	3580	GN		No	No
Caso 27	34,14	2230	CPAP	35	No	No
Caso 28	41,28	2990	No	21	No	No
Caso 29	39,14		VAFO	55	Sí	Sí
Caso 30	27,14	786	CPAP	25	No	No
Caso 31	40,71	3370	No	21	No	No
Caso 32	38,14	2750	No	21	No	No

Soporte Respiratorio* (GN= Oxigenoterapia en Gafas Nasales; CPAP= Presión Positiva Continua en la vía aérea; VMC=Ventilación Mecánica Convencional; VAFO= Ventilación mecánica de Alta Frecuencia.)

Tabla 9.8. DATOS ANALÍTICOS A LAS 48 HORAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	pH	Láctico (mmol/L)	Leucocitos	Neutrófilos	PCR (mg/L)	PCT (ng/ml)
Caso 1						
Caso 2	<i>Exitus < 12h</i>					
Caso 3	7,42	1,8	38700	20124	21,6	48,6
Caso 4	7,42	1,5				
Caso 5	7,36	1,6	22100	12200	88,86	
Caso 6	7,35	3,3	24400	12400	1,03	1,03
Caso 7	7,3	1,7				
Caso 8	7,49	2,7	5300	1700	27,34	2,28
Caso 9	7,42	1,4	16300	8100	48,25	19,67
Caso 10	7,38	1,4	12800	3500	26,6	2,36
Caso 11			19200	10200	41	34
Caso 12	7,35	0,8	17100	10100	0,78	1,1
Caso 13	7,36	1,1	15400	6700	0,67	0,4
Caso 14	7,33	2,2	14800	8900	1,92	0,64
Caso 15	7,37	2,1	12300	4400	20,43	11,11
Caso 16	7,39	1,5	28400	20164	14,72	0,49
Caso 17	7,43	2,8	9000	3400	9,62	5,77
Caso 18	7,63	0,78	13100	5000	7,63	0,78
Caso 19	7,47	0,9	23400	4500	55,17	17,47
Caso 20	7,54	3,4	16900	4400	15,64	10,73
Caso 21			7500	3900	17,95	0,14
Caso 22	7,47	2	9800	3600	8,74	0,18
Caso 23	7,33	1,3	8600	5100	1,88	0,86
Caso 24	<i>Exitus 48 h</i>					
Caso 25	7,36	1,4	10500	5300	158,7	10,87
Caso 26	7,38	3,1	17800	11700	21,15	1,16
Caso 27	7,38	2,1	11500	5000	0,78	1,19
Caso 28			11300	4400	1,27	0,66
Caso 29	7,36	1,4	5900	3700	21,88	10,05
Caso 30	7,41	0,8	17200	8300	1,17	0,48
Caso 31	7,38	1,8	7100	2100	3,19	0,52
Caso 32	7,37	1,8	9300	2400	1,02	48,6

Tabla 9.9. DATOS CLÍNICOS A LOS 7 DÍAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	EG corregida (semanas)	Peso (gramos)	Soporte respiratorio	FiO2 (%)	Shock	Fracaso multiorgánico
Caso 1	33,14	1890	VMC	33	No	No
Caso 2	<i>Exitus <12 h</i>					
Caso 3	41,42	3440	No	21	No	No
Caso 4	41,28	3510	No	21	No	No
Caso 5	41,57	4340	No	21	No	No
Caso 6	39,71	2745	No	21	No	No
Caso 7	41	3205	CPAP	40	No	No
Caso 8	36,42	2670	GN	21	No	No
Caso 9	42,28		No	21	No	No
Caso 10	32	1560	GN	21	No	No
Caso 11					No	No
Caso 12	27		VMC	100	Sí	Sí
Caso 13	27,85				No	No
Caso 14	36,71	2080	No	21	No	No
Caso 15	32,85	1655	GN	23	No	No
Caso 16	33,42	1243	VMC	28	No	No
Caso 17	32,28		No	21	No	No
Caso 18	33,85	1450	CPAP	21	No	No
Caso 19	33,85	1160	No	21	No	No
Caso 20	37,57	2570	No	21	No	No
Caso 21	43,42	4060	No	21	No	No
Caso 22	41,42	3350	No	21	No	No
Caso 23	35,71	2410	No	21	No	No
Caso 24					No	No
Caso 25	39,42	3250	VMC	21	No	No
Caso 26	41,14	3665	No	21	No	No
Caso 27	34,85	2230	GN	21	No	No
Caso 28	42	3150	No	21	No	No
Caso 29	39,71		VAFO	45	Sí	Sí
Caso 30	27,85	868	GN	30	No	No
Caso 31	41,42	3865	No	21	No	No
Caso 32	38,85	2900	No	21	No	No

Soporte Respiratorio* (GN= Oxigenoterapia en Gafas Nasaes; CPAP= Presión Positiva Continua en la vía aérea; VMC=Ventilación Mecánica Convencional; VAFO= Ventilación mecánica de Alta Frecuencia.)

Tabla 9.10. DATOS ANALÍTICOS A LOS 7 DÍAS DEL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

	pH	Láctico (mmol/L)	Leucocitos	Neutrófilos	PCR (mg/L)	PCT (ng/ml)
Caso 1	7,46	0,7	10100	4600	4,04	0,25
Caso 2	<i>Exitus < 12h</i>					
Caso 3	7,42	2,1	24200	13552	3,87	0,22
Caso 4	7,37	1,5	9400	2300	3,41	0,05
Caso 5	7,24	1	12000	5700	1,24	0,37
Caso 6	7,46	1,5	22500	6800	0,18	0,06
Caso 7	7,4	1,7	15100	4100	1,37	0,16
Caso 8	7,39	3,6	13900	5700	0,52	0,06
Caso 9						
Caso 10	7,31	1,8	10700	1500	0,65	0,12
Caso 11						
Caso 12	7,23		21600	13200	6,45	1,65
Caso 13						
Caso 14	7,43	2,5	15400	3200	0,41	0,07
Caso 15	7,4	1,6	12100	3900	1,06	0,06
Caso 16	7,28	2,1	57200	41800	1,02	0,14
Caso 17	7,42	1,1				
Caso 18			14200	4600	0,64	0,11
Caso 19			16300	5100	2,85	0,23
Caso 20	7,37	1,4	18200	8600	1,22	0,18
Caso 21			12300	4200	2,2	0,05
Caso 22			12100	4500	1,56	0,09
Caso 23	7,33	2,5	10600	3300	0,74	0,12
Caso 24						
Caso 25	7,4	0,8	14900	11800	136,7	0,56
Caso 26	7,39	1,6	21500	11000		0,09
Caso 27	7,55	1,8	16500	4200	0,26	0,1
Caso 28			13900	5200	0,38	0,11
Caso 29	7,35	0,7	11100	6300	1,9	0,52
Caso 30	7,39	0,6	18800	11600	1,41	0,23
Caso 31	7,38		11400	2600	0,48	0,05
Caso 32	7,42	0,7	13100	2700	0,55	0,06

Tabla 9.11. NIVELES DE MELATONINA (pg/ml)

	Al diagnóstico	A las 12 horas	A las 24 horas	A las 48 horas	A los 7 días
Caso 1	>1000				18,9
Caso 2	<2	Exitus			
Caso 3			9,2	<2	16,8
Caso 4	151,1	83,2	72,3	30,9	60,9
Caso 5	14,9	24,2	30,2	29,8	38
Caso 6	10,3	11,6	21,6	27,5	32,4
Caso 7	16,7		17,2	38	40,7
Caso 8		95,4	27,8	19,2	16,7
Caso 9	18,6	26,8	12,1	10	37,4
Caso 10	6,9	8,9	7,7	8,8	4
Caso 11	55,8	29,3	37,8	24,8	
Caso 12	6,5	8,3	16,1	12,9	27,5 Exitus
Caso 13	294			16	7,3
Caso 14	3			30,1	13,3
Caso 15	6,1				
Caso 16	17,9				
Caso 17	<2	17,7	18,1	20,3	16
Caso 18	6,6	4,3	5,2	9,7	<2
Caso 19		10,6			15,1
Caso 20	32,2	42	35	39,9	22,1
Caso 21	21,9	21,9	15	15,3	20,6
Caso 22		7,8		8,8	11,8
Caso 23		14,1	14	5,2	
Caso 24	36,5	50,6	109,6	Exitus	
Caso 25	5,5	30	14,6	7,1	95,7
Caso 26	21,9	22,6		12,4	
Caso 27		26		25,5	
Caso 28	1,7	2	2	2	10,6
Caso 29	8,6	2	8,6	34,2	291,3
Caso 30	44,8	62,6	44,3	24	19
Caso 31	49,3	39,3	44,3	28,7	
Caso 32	28,7	6,4		27,5	16,7