

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL GENERAL, O.D.

UNIDAD DE CIRUGIA GENERAL

**Análisis del comportamiento molecular de TREM-1, MHCII y  
citocinas anti-inflamatorias en la pancreatitis aguda.**

T E S I S   D E   P O S G R A D O  
Q U E   P A R A   O B T E N E R   E L   T Í T U L O   E N  
L A   E S P E C I A L I D A D   E N   C I R U G Í A   G E N E R A L  
P R E S E N T A  
D R A . S I L V I A M A R G A R I T A F I G U E R O A F I G U E R O A

México, D.F.

Agosto 2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL GENERAL, O.D.

UNIDAD DE CIRUGIA GENERAL

**Análisis del comportamiento molecular de TREM-1, MHCII y citocinas anti-inflamatorias en la pancreatitis aguda.**

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO EN LA ESPECIALIDAD EN  
CIRUGÍA GENERAL

PRESENTA:

DRA. SILVIA MARGARITA FIGUEROA FIGUEROA

TUTOR DE TESIS

---

DR. EDUARDO FERAT OSORIO

TUTOR DEL CURSO DE POSGRADO

---

DR. CÉSAR ATHIE GUTIÉRREZ

DIRECTOR DE ENSEÑANZA

---

DR. J. FRANCISCO GONZÁLEZ MARTÍNEZ

Colaboradores:

Lourdes Arriaga\*

Isabel Wong\*

Noemí Esquivel\*

Rosalía Aduna\*

Heriberto Rodea Rosas<sup>ξ</sup>

Constantino López\*

Guillermo Robles\*\*

Andrés Duarte<sup>Ω</sup>.

Gilberto Guzmán<sup>€</sup>.

Patricio Sánchez<sup>κ</sup>.

\*Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica (UIMI), Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda”, Centro Médico Nacional Siglo XXI (HE CMN), IMSS

<sup>κ</sup>Servicio de Gastrocirugía, HE CMN.

\*\*Unidad de Investigación Hígado, Páncreas y Motilidad. Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM, Hospital General de México, SSA (HGM).

<sup>ξ</sup>Servicio de Urgencias, HGM Organismo Descentralizado (OD).

<sup>Ω</sup> Residente de Gastroenterología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

<sup>€</sup> Médico Adscrito al servicio de Cirugía General, Hospital General Regional Número 1 Gabriel Mancera. IMSS. Delegación 3SO. México D.F.

## **Agradecimientos y Dedicatorias**

Le doy gracias a dios por la vida, por todas las oportunidades que ha puesto en mi camino, por todas las bendiciones que he recibido y sobre todo por darme la oportunidad de ser médico y sobre todo cirujano.

Gracias a Silvia y Jorge por todo su apoyo incondicional, por sus palabras de ánimo, sin ustedes yo no estaría escribiendo esta tesis.

Brenda, Nora, Rocío, Lizbeth y Rosario gracias por estar a mi lado en los momentos buenos y malos.

Doy gracias a mis maestros: Dr. Sergio Godoy, Dr. Sergio Eguiza, Dr. Víctor Martínez, Dr. Víctor Loredó, Dr. Marco Antonio Camacho, Dr. Miguel Ángel Maldonado, Dr. Sergio González, Dr. Vicente González, Dr. Raúl Sánchez, Dr. Víctor M. Menéndez, Dr. José Luis Alcudia por ser mis guías en el camino que ahora empiezo, por sus consejos, por todas las enseñanzas impartidas y por toda la paciencia que tuvieron.

Gracias por todo su apoyo cuando más lo necesitaba al Dr. Heriberto Rodea, Dr. Javier Melchor, Dr. Octavio Flores y Dr. Rafael Borrego.

A todos los colaboradores que con su trabajo lograron que se concretara este proyecto.

Y mi eterno agradecimiento para el Dr. Eduardo Ferat que fue un asesor increíble, por enseñarme que nada es imposible (como llegue a pensar algunas veces, acerca de este proyecto) y que vale la pena confiar en las personas. Además de que sin él esta tesis no existiría.

Para todos ustedes es este trabajo.

Un muy especial agradecimiento al Dr. Armando Isibasi Araujo, Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica del CMN Siglo XXI, gracias por su valiosa participación ya que la idea y el apoyo financiero para realizar este proyecto se lo debemos a el.

## Índice

<b>RESUMEN</b> .....	7
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	9
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	10
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	14
<b>HIPÓTESIS</b> .....	14
<b>METODOLOGÍA</b> .....	15
DISEÑO DEL ESTUDIO: .....	15
CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	18
PROCEDIMIENTO GENERAL.....	19
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	23
<b>RESULTADOS</b> .....	24
<b>DISCUSIÓN</b> .....	29
<b>CONCLUSIONES</b> .....	34
<b>FIGURAS</b> .....	35
<b>ANEXOS</b> .....	41
<b>ESCALA DE APACHE II</b> .....	41
<b>HOJA DE RECOLECCION DE DATOS</b> .....	43
<b>CRITERIOS DE ATLANTA</b> .....	47
<b>CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO</b> .....	49
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	51

## Resumen

La pancreatitis aguda (PA) es un padecimiento inflamatorio de la glándula pancreática, cuya etiología es multifactorial, siendo la biliar y la alcohólica, las situaciones relacionadas más frecuentemente con la enfermedad. Su presentación en México es relativamente frecuente y el pronóstico de la misma depende de su severidad. En este sentido, la PA tiene una forma autolimitada y leve, pero cerca en aproximadamente 25% de los pacientes desarrollan la forma grave, que tiene una mortalidad aproximadamente del 50%. La PA es un proceso inflamatorio que puede desarrollar tres fases: la inflamación local, la sistémica (que implica el desarrollo del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica), y en algunas ocasiones, la presencia de complicaciones, que corresponden a la falla orgánica múltiple y/o a la sepsis. Algunos pacientes con PA severa que sobreviven la primera semana, pueden desarrollar necrosis pancreática y peripancreática. La infección del tejido necrótico pancreático y peripancreático, puede favorecer la presencia de la sepsis. Un mecanismo de regulación del SIRS es el síndrome de respuesta anti-inflamatoria compensadora (CARS), que a nivel molecular se caracteriza por la disminución del nivel de expresión de MHCII en monocitos, el incremento de citocinas anti-inflamatorias (IL-10) y en general, por la pérdida de la función normal de los monocitos. A este estado se le denomina Parálisis Inmunológica, y se plantea que favorece el establecimiento de infecciones y por lo tanto, el desarrollo de sepsis.

El objetivo de este trabajo es analizar la evolución molecular de pacientes con PA a través de la expresión de MHCII en monocitos y la concentración sérica de IL-10, como indicadores de parálisis inmunológica. Por otro lado, existen moléculas que tienen un papel poco conocido en el desarrollo del proceso inflamatorio, una de ellas es TREM-1, que puede fungir como indicador temprano de infección. TREM-1 es un receptor implicado en la amplificación de la respuesta

inflamatoria y se localiza en células mieloides. La determinación de este receptor puede facilitar la identificación de los casos que se encuentran en riesgo del desarrollo de infección, incluso la posibilidad de predecir la evolución de nuestro paciente. A nivel clínico se evaluará la evolución de los pacientes de acuerdo con las escalas APACHE II y los criterios de Atlanta. Finalmente se analizará la correlación entre el comportamiento molecular y la evolución clínica, con el objeto de integrar un criterio clínico-molecular que permita reforzar el diagnóstico diferencial y oportuno entre el SIRS y el CARS derivado de procesos no infecciosos y sepsis. También se evaluará si estos indicadores clínico-moleculares son pronósticos de la evolución de los pacientes.

## Planteamiento del problema

Desde el punto de vista clínico, la definición de SIRS, aunque reduccionista, indica la presencia de un proceso inflamatorio. Sin embargo, aún no se han identificado completamente los mecanismos moleculares que dan lugar a este síndrome. Por el contrario, en el caso del CARS, la determinación de las moléculas que lo caracterizan no tienen correlación con las manifestaciones clínicas; de hecho, existen situaciones en las que los pacientes pueden presentar datos clínicos del SIRS, pero con comportamiento molecular de CARS. La presencia de CARS predispone a la infección, lo que puede dar lugar a la sepsis; es decir, la presencia de CARS podría anteceder a la aparición de sepsis en ciertas situaciones. Si se demuestra una asociación oportuna entre el CARS (definido como el incremento del nivel sérico de IL-10, la disminución en la expresión de MHCII en monocitos y la disminución de la capacidad de los monocitos para secretar TNF- $\alpha$  *ex vivo* ante el estímulo con LPS), y la complicación infecciosa, se obtendría una importante ventaja clínica. Con este conocimiento se podrían tomar las medidas médico-quirúrgicas necesarias para prevenir la infección, o bien, para tratarla oportunamente. Lo anterior nos da la pauta para analizar si el incremento en la expresión de TREM-1 en su forma membranal, así como la disminución en la expresión MHCII, se pueden considerar como señales tempranas del establecimiento de un proceso infeccioso durante la evolución de pacientes con PA.

## Marco teórico

La inflamación es esencial para la sobrevivencia, pero también puede ser una causa importante de morbilidad y mortalidad. Uno de los ejemplos más dramáticos del potencial patológico de la inflamación es la pancreatitis aguda <sup>(1)</sup>. De los pacientes que desarrollan pancreatitis aguda, 20% a 31% desarrollan la forma grave (PAG), que tiene mortalidad de 10% en el caso de necrosis pancreática no infectada y > del 25% en el caso de necrosis infectada <sup>(2; 3)</sup>. En México, la etiología biliar es la causa más frecuente y el alcoholismo la segunda <sup>(4)</sup>. La activación de enzimas digestivas en las células acinares es el primer paso para el desarrollo de la enfermedad <sup>(5)</sup>, y da lugar a una reacción inflamatoria local. Por causas no del todo comprendidas, el proceso inflamatorio local puede convertirse en un evento sistémico, que en clínica se conoce como Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) <sup>(6; 7)</sup>. Los pacientes con PAG pueden tener elevada mortalidad durante la primera semana, secundaria al desarrollo de falla orgánica múltiple (FOM), y los que sobreviven más allá de esta semana crítica a menudo desarrollan necrosis extensa del tejido pancreático y peripancreático <sup>(8)</sup>; este tejido es susceptible de infectarse en 30% a 70% de los casos, lo que lleva al desarrollo de sepsis. La sepsis también condiciona la persistencia o aparición de la FOM <sup>(9; 10)</sup>.

Aún no se conoce con certeza la fuente de infección del tejido necrótico en los pacientes con pancreatitis aguda <sup>(11)</sup>, pero la translocación bacteriana <sup>(12)</sup> y las intervenciones médicas menores facilitan la presencia de microorganismos en estos pacientes y el inicio de una segunda respuesta inflamatoria (“second-hit response”) <sup>(13;14)</sup>. El evento inicial es la liberación de Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs) a la circulación <sup>(15)</sup>, que son reconocidos por Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRRs) en células presentadoras de antígenos (APCs), como monocitos, macrófagos, células dendríticas, y células endoteliales <sup>(16-21)</sup>. El paradigma utilizado para estudiar la vía de señalización de PAMPs a través de PRRs es el reconocimiento del lipopolisacárido (LPS) de bacterias Gramnegativas a través del complejo CD14/MD2/TLR4 en el macrófago

y su posterior activación por la activación sucesiva de MyD88, IRAK, TRAF-6, MAPK y NF- $\kappa$ B<sup>(22; 23)</sup>. La translocación de NF- $\kappa$ B al núcleo inicia la transcripción de moléculas de adhesión, citocinas proinflamatorias (ej. TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6), proteínas de fase aguda, factores de transcripción, óxido nítrico sintasa, ciclooxigenasa-2 y HMGB1, entre otras<sup>(24; 25)</sup>. Una vez en la circulación, estas citocinas activan, entre otras cosas, al endotelio vascular, cuya importancia en la respuesta inflamatoria es trascendental<sup>(26)</sup>. La disfunción endotelial causa adhesión y migración de leucocitos, activación de especies reactivas de oxígeno, vasodilatación, mayor producción de citocinas y activación del complemento<sup>(27; 28)</sup>. Todo lo anterior puede resultar en daño tisular y falla orgánica<sup>(29; 30)</sup>.

La respuesta pro-inflamatoria se compensa por mediadores anti-inflamatorios (IL-4, IL-10, IL-13 y PGE2), que suprimen la síntesis y acción de los mediadores pro-inflamatorios, y por receptores solubles que antagonizan o neutralizan la acción de su ligando correspondiente<sup>(31)</sup>. Toda esta actividad molecular tiene una traducción clínica en el SIRS, sin embargo, este síndrome es hasta cierto punto inespecífico, por lo que Bone<sup>(32)</sup> acuñó el término de “Síndrome de respuesta anti-inflamatoria compensadora” (CARS), que no tiene una traducción clínica, pero se caracteriza desde el punto de vista molecular, por la disminución en la expresión de moléculas HLA-DR del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHCII) de las APC y por el incremento en el nivel sérico de IL-10. En el CARS los pacientes son más susceptibles a la infección, probablemente por una hiporespuesta de los monocitos ante la presencia de PAMPs, que se conoce como parálisis inmune y se caracteriza por la disminución de la capacidad del monocito para secretar TNF- $\alpha$  *ex vivo* ante el estímulo con LPS<sup>(33)</sup>. La disminución en la expresión de MHCII en la superficie de monocitos disminuye su capacidad para presentar antígenos. Estas alteraciones se pueden presentar en pacientes posquirúrgicos, en pacientes con trauma severo, pacientes con quemaduras, y se relaciona con el desarrollo de infecciones oportunistas<sup>(34-37)</sup>. Así, tanto la expresión de MHCII como la disminución en la síntesis de TNF- $\alpha$  ante el estímulo con LPS *ex vivo*, son considerados como indicadores moleculares del CARS<sup>(38)</sup>.

La PA se considera un modelo para el estudio de la respuesta inflamatoria, en el contexto del SIRS y, eventualmente en el de la sepsis si esta se desarrolla (39; 44). El análisis de las citocinas en la pancreatitis ha intentado establecer marcadores de gravedad (ej. IL-6 e IL-8) o mediadores de progresión de la enfermedad (ej. TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) (45; 46). Sin embargo, son pocos los estudios que tienen como fin caracterizar la respuesta inmune temprana en este tipo de pacientes (47). Uno de estos trabajos ha concluido que la activación intrapancreática de enzimas digestivas ocasiona una lesión tisular local en la que los macrófagos residentes liberan IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, e IL-10. Las células acinares del páncreas son otra fuente de mediadores inflamatorios (bradicininas, óxido nítrico y quimiocinas). La producción de citocinas en el páncreas es seguida, horas después, por una producción adicional en órganos como el hígado, pulmón y bazo. Aún se desconocen los factores que inducen la expresión de citocinas en estos sitios (48).

Los eventos moleculares que llevan al desarrollo del SIRS y CARS en pacientes con PA no se encuentran del todo claros. Una de las posibles consecuencias del CARS es la generación de sepsis, que en muchas ocasiones es imposible demostrar mediante cultivos, y esto causa una demora en el tratamiento específico. Por ello se han buscado mediadores endógenos que puedan ayudar al diagnóstico temprano de sepsis.

Uno de estos mediadores es TREM-1 (Receptor Activador Expresado en Células Mieloides-1) (49), un receptor que amplifica la respuesta inflamatoria (50) y que se expresa de forma constitutiva en neutrófilos y monocitos. El estímulo con bacterias Gramnegativas, Grampositivas y hongos, aumenta su expresión a nivel de proteína en superficie, y la IL-10 regula negativamente su expresión (51; 52). Aún no se conoce su ligando, pero la activación de neutrófilos y monocitos a través de TREM-1 con un anticuerpo monoclonal agonista, induce la secreción de citocinas pro-inflamatorias y quimiocinas, y la expresión de moléculas coestimuladoras, con un efecto sinérgico con LPS (53). La expresión de TREM-1 está aumentada en los neutrófilos peritoneales de pacientes con choque séptico (54) y en pacientes con

PA, el incremento de expresión del mRNA de TREM-1, correlaciona con la gravedad de la enfermedad <sup>(55)</sup>. Los resultados de Isibasi y colaboradores indican que la expresión de TREM-1 en la superficie de monocitos es más alta en pacientes sépticos, y que cuando esto se asocia con una disminución en la expresión de HLA-DR, la enfermedad es más grave <sup>(56)</sup>. Existe una forma soluble de TREM-1, que al parecer es una variante por corte alternativo. Esta forma TREM-1 (sTREM) está aumentada en los lavados broncoalveolares de pacientes con neumonía por bacterias y hongos <sup>(57)</sup>, en el suero de pacientes con sepsis <sup>(58; 59)</sup>, y también está aumentada a nivel de mRNA en los monocitos de pacientes sépticos. Existe evidencia de que el posible ligando de TREM-1 se encuentra en el suero de los pacientes sépticos <sup>(60)</sup>.

Una de las causas más frecuentes de muerte en PA es el desarrollo de sepsis, por lo que sería de gran utilidad clínica la identificación de marcadores que permitieran detectar oportunamente a los pacientes con PA que desarrollarán sepsis.

## **Objetivo General.**

Determinar si la expresión de TREM-1 en forma temprana en pacientes con pancreatitis aguda, puede servir como biomarcador del desarrollo de infección en estos pacientes.

Determinar si la presencia del Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria Compensadora, determinado a través del análisis de MHCII e IL-10 (dos moléculas cuya disminución e incremento, respectivamente), se asocia con el desarrollo de infección en pacientes con pancreatitis aguda.

## **Hipótesis.**

El incremento en la expresión de TREM-1 en forma temprana en pacientes con pancreatitis aguda, servirá como biomarcador del desarrollo de infección en estos pacientes.

El desarrollo del Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria Compensadora, determinado a través de MHCII e IL-10, dos de las moléculas que lo caracterizan, se asocia con el desarrollo de infección en pacientes con pancreatitis aguda.

## **Metodología.**

Diseño del estudio:

Estudio de cohorte (prospectivo, longitudinal, comparativo)

Universo de trabajo.

Quedará constituido por pacientes con diagnóstico de PA, que ingresen por los servicios de urgencias de los siguientes hospitales: Hospital General de México de la Secretaría de Salud (UHGM); Hospital General Regional “Gabriel Mancera”, IMSS; Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición, “Salvador Zubirán” y del Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez”, del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Descripción de las variables según la metodología

a.-Variables independientes:

a.1. Pancreatitis Aguda (PA)

a.2. Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria Compensadora (CARs).

a.2.1. Nivel sérico de IL-10.

a.2.2. Expresión de HLA-DR.

a.3. Expresión de TREM-1 de membrana.

b.- Variables dependientes:

b.1.- Sepsis.

c.- Variables demográficas.

c.1.- Edad.

c.2.- Sexo.

Definición operacional de variables:

§ Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria Compensadora:

Se define desde el punto de vista molecular por una expresión inferior al 30% de HLA-DR en monocitos (medida por citometría de flujo) y un incremento en el nivel sérico de IL-10 (medido por ELISA).

§ IL-10:

Citocina involucrada en la regulación de la actividad celular, particularmente de la respuesta inmune. Tiene efectos predominantes en la respuesta anti-inflamatoria y se encuentra involucrada en la generación de la respuesta sistémica anti-inflamatoria compensadora. Su determinación es mediante ELISA y el resultado se expresa en picogramos por ml, es una variable cuantitativa continua.

§ TREM-1:

Receptor activador expresado en células Mieloides (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells). Es una proteína perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Se expresa en neutrófilos y monocitos CD14+. No se conoce su ligando y su activación induce la liberación de mediadores proinflamatorios con un efecto sinérgico con LPS. Su determinación se hará mediante citometría de flujo y se reportará como intensidad media de fluorescencia.

§ MHCII:

Molécula de clase II del complejo principal de histocompatibilidad, también conocida como HLA-DR, se encarga de la presentación de antígenos exógenos a las células T y se localiza en la superficie de las células presentadoras de antígenos. Su determinación es a través de citometría de flujo y se reportará como porcentaje de expresión.

### § Sepsis:

Se define como el SIRS más la demostración de la presencia de algún agente infeccioso. El Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS), según el *American College of Chest Physicians* y la *Society of Critical Care Medicine* (61), se diagnostica cuando se reúnen dos o más de las siguientes características: temperatura  $>38^{\circ}\text{C}$  o  $<36^{\circ}\text{C}$ , frecuencia cardíaca  $>90$  latidos/min, frecuencia respiratoria  $>20$ /min y cuenta de leucocitos  $>12000/\text{mm}^3$ ,  $<4000/\text{mm}^3$  o  $>10\%$  de bandas.

### § Pancreatitis Aguda:

Es un proceso inflamatorio del páncreas, con involucro variable de otros tejidos regionales u órganos remotos.

El diagnóstico se realiza con base en el cuadro clínico, asociado a la evidencia de la elevación sérica de enzimas pancreáticas y hallazgos de imagen.

#### a. Manifestaciones clínicas que pueden presentarse:

- Dolor abdominal punzante localizado en epigastrio o de tipo difuso irradiado generalmente a espalda, constante y que se incrementa con la posición supina.
- Náusea y vómito de contenido gástrico en poca cantidad que no modifica el dolor.
- Fiebre de  $38.3^{\circ}\text{C}$  a  $38.9^{\circ}\text{C}$  que no necesariamente indica infección.
- Taquicardia.
- Hipotensión por vómito y pérdida de líquidos al tercer espacio, al retroperitoneo o intestinal, secundario al íleo y/o hemorragia.
- Exploración física: distensión abdominal, resistencia muscular involuntaria, signo de rebote por irritación peritoneal, disminución o ausencia de la peristalsis. Los signos de Grey Turner (equimosis en los flancos) o el signo de Cullen (equimosis periumbilical), son observados con poca frecuencia.

#### b. Laboratorio:

- Amilasa por arriba de 3 veces lo normal.
- Lipasa por arriba de 3 veces lo normal.

c. Imagen:

- Tomografía abdominal contrastada, con sensibilidad de 90% y especificidad del 100% para la pancreatitis aguda. Reporta tamaño, disminución de la densidad, dilatación de conductos, colecciones pancreáticas y peripancreáticas, así como necrosis de la grasa peripancreática.
- Ultrasonido de páncreas con sensibilidad de 62% al 95% y especificidad hasta del 95%

Severidad de la pancreatitis.

Esta se clasificará en PA leve y PA grave.- Ver Anexo Criterios de Atlanta <sup>(62)</sup>.

§ Edad: expresada en años en una escala cuantitativa discreta.

§ Sexo: expresado en una escala cualitativa nominal. Masculino, femenino.

Selección de la muestra

Se incluirán, en forma consecutiva, todos los pacientes con diagnóstico de PA que cumplan con los criterios de inclusión.

Tamaño de la muestra.

Se incluirán a todos los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión, que se presenten en los servicios de urgencias de los hospitales antes mencionados, con diagnóstico de PA (de acuerdo a los definido previamente).

Criterios de selección.

Criterios de inclusión:

Pacientes con diagnóstico de Pancreatitis Aguda.

Criterios de no-inclusión:

PA de más de 72 horas de evolución del inicio de los síntomas.

Laparotomía exploradora en las primeras 72 horas de evolución de la PA.

Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

Hepatitis crónica por Virus de la Hepatitis B y C.

Tratamiento de inmunosupresores.

Patología neoplásica o autoinmune subyacente.

Quimioterapia por enfermedad neoplásica subyacente.

Pacientes que rehúsen a participar en el estudio y/o que no acepten los términos de la carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

Desear ser egresados del proyecto.

Pacientes cuyos datos clínicos se extravíen.

Muestras de sangre no óptimas para su procesamiento.

Procedimiento.

Procedimiento General.

Los pacientes con diagnóstico de PA que ingresen a los hospitales participantes, serán captados por el personal del propio hospital. El diagnóstico se realizará de acuerdo a los criterios diagnósticos ya establecidos y que se enumeran en párrafos anteriores. El manejo inicial y subsecuente de cada paciente, estará a cargo del propio servicio de urgencias y de los posteriores servicios tratantes de cada uno de los hospitales. Antes de la primera toma de muestra para el proyecto, se solicitará el consentimiento informado de cada paciente para participar en él, o en su defecto, de la persona legalmente responsable. Se explicará en qué consiste su participación y le será proporcionada la carta de consentimiento informado para que la lea y autorice (Ver Anexo de Carta de Consentimiento). Se seguirá la evolución de cada paciente, desde su ingreso hasta su egreso. La toma de muestras se hará en el momento del ingreso, a las 24 horas y, posteriormente, a las 48 horas y a las 120 hrs. El seguimiento clínico se registrará en hojas de recolección de datos (Ver Anexo Hoja de Recolección de datos). Estas serán completadas por el propio equipo de colaboradores. En este documento se tendrá registro de los datos demográficos, antecedentes patológicos, datos de laboratorio y gabinete, así como los procedimientos intervencionistas.

Los pacientes se calificarán con la escala de APACHEII, para evaluar gravedad de la enfermedad (Ver Anexos de APACHEII), cuando así lo ameriten. Al final de su seguimiento, la clasificación de la pancreatitis (leve o grave), se determinará de acuerdo a los criterios de Atlanta.

Las cirugías en los pacientes con PA, cuando se realicen, serán registradas en las hojas de recolección, con los hallazgos correspondientes a cada uno de los procedimientos, sus indicaciones y el tipo de cirugía realizada. Así mismo, los procedimientos como la instalación de catéteres por vía central, determinaciones hemodinámicas, hemodiálisis, transfusiones, tomas de cultivos, etcétera, también serán registrados en las hojas de recolección de datos, con las fechas correspondientes de todos ellos.

Procedimiento en particular.

Para la obtención de la muestra de sangre de pacientes que no cuenten con catéter central, se tomará por punción bajo el siguiente protocolo: asepsia de la región con torundas alcoholadas, aplicación de un torniquete con tubo de látex en el tercio distal del brazo seleccionado, punción con aguja Vacutainer 0.8 x 38 en la vena mediana preferentemente y obtención de 8 mL de sangre por presión negativa, en un tubo sin anticoagulante (3 mL) y otro tubo con heparina de litio (14.5 UI/ml) (3 mL). Para aquellos que cuenten con catéter central, se hará asepsia del conector del catéter, extracción de 8 ml de sangre y posteriormente lavado de catéter con 10 ml de solución salina. En los casos en los que el catéter central se encuentre cerrado, se heparinizará con 0.5 ml de heparina de 1000 unidades.

Procedimiento de la muestra de sangre para determinación de citocinas séricas. Se determinará IL-10 como molécula asociada al CARS, sin embargo, también se determinará IL-6, conocida como una molécula que se asocia al pronóstico de la enfermedad.

Tres mililitros de sangre del tubo sin anticoagulante serán centrifugados a 2500 rpm durante 10 minutos a 8 grados centígrados. Se extraerá el suero con pipetas de precisión y puntas desechables. Se harán alícuotas de 250  $\mu$ L en tubos Eppendorf de 0.5 mL. Posteriormente se congelarán a -20°C para su posterior análisis.

Se llevará a cabo el método de ELISA para la detección IL-6 e IL-10. Se utilizará el kit OptEIA™ (Pharmingen) correspondiente a IL-10. El procedimiento en general se explica a continuación:

Se utilizarán placas de 96 pozos y se cubrirán con 50 $\mu$ L de anticuerpo de captura diluido en solución reguladora (la concentración dependerá de la citocina, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante). Se incubarán toda la noche a 4°C (en cuarto frío) y al día siguiente se lavarán 3 veces con solución reguladora de lavado (PBS con Tween-20 0.05%).

Los pozos serán cubiertos con 200  $\mu$ L de solución reguladora de bloqueo (PBS con FBS 10%, pH 7.0) y permanecerán en incubación por 1 hora a temperatura ambiente y se lavarán 3 veces con solución reguladora de lavado.

Se prepararán diluciones seriadas del estándar de acuerdo al inserto de la citocina correspondiente y por duplicado se colocarán 100  $\mu$ L de cada concentración estándar y 100  $\mu$ L por duplicado de cada muestra y controles. Las placas permanecerán en incubación por dos horas a temperatura ambiente y se lavarán cinco veces con solución reguladora de lavado.

Se añadirán 100  $\mu$ L de solución de detección (Anticuerpo de detección más estreptavidina-HRP) a cada pozo y se incubará por una hora a temperatura ambiente. Se lavará siete veces con solución reguladora de lavado.

Se añadirán 100  $\mu$ L de solución sustrato (tetrametilbenzidina más peróxido de hidrógeno) a cada pozo y se incubará por 30 minutos a

temperatura ambiente protegido de la luz. Se añadirán 50  $\mu$ L de solución de paro (ácido sulfúrico 2 N) y 30 minutos después se leerá la absorbancia a 450 nm.

Procedimiento para la determinación de las moléculas de superficie, HLA-DR y TREM-1 por citometría de flujo.

Se colocarán 50  $\mu$ L de sangre total heparinizada en un tubo de poliestireno (5 mL) en presencia de 3  $\mu$ L de los siguientes anticuerpos: anti-CD14 humano conjugado con ficoeritrina cianica 5(PCy5), anti-HLA-DR humano conjugado con FITC y anti-TREM-1 humano conjugado con PE, y se incubará por 20 min en oscuridad a temperatura ambiente.

Se agregarán 250  $\mu$ L de solución comercial fijadora y de lisis (FACSlysis) y se incubará por 10 min en oscuridad a temperatura ambiente.

Se agregarán 1-2 mL de solución isotónica, se agitará y se centrifugará a 300 x g por 5 min. Se decantará y resuspenderá el botón celular en 50-100  $\mu$ L de solución isotónica. Las muestras así procesadas se analizarán en el citómetro de flujo EPICS Altra del Centro de Instrumentos del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI.

Anticuerpos.

Fluorescein isothiocyanate (FITC)-labeled anti-CD14 monoclonal antibody se compró a BD Biosciences Pharmingen (CA, USA) (Cat. 555397, clone M5E2, mouse IgG<sub>2a</sub>, $\kappa$ ). Phycoerythrin (PE)-cyanin dye Cy5-labelled anti-HLA-DR (MHC-II) monoclonal antibody se le compró a BD Biosciences Pharmingen (Cat. 555813, clone L243, mouse IgG<sub>2a</sub>, $\kappa$ ). PE-labelled anti-TREM-1 monoclonal antibody se le compró a R&D Systems (MN, USA) (Cat. FAB1278P, clone 193015, mouse IgG1). No ha encontrado reactividad cruzada con otras moléculas humanas.

## Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados utilizando la prueba de ANOVA. De esta se emplearon la prueba de Tukey's y la de Kruskal-Wallis, esta última con la postprueba de Dunn. Se utilizó el programa GraphPad Prism versión 5.0 (GraphPad Software, CA, USA). Se consideraron los resultados con significancia estadística cuando se obtuvieron valores de  $P < 0.05$ .

## Resultados

### Datos demográficos.

Este trabajo fue multicéntrico y aprobado por los comités de ética de cada uno de los hospitales participantes que incluyeron: Hospital General de México, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán, el Hospital General Regional “Carlos MacGregor Sánchez Navarro” y el Hospital de Especialidades del CMN SXXI del IMSS. El análisis de las muestras se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica del Hospital de Especialidades del CMN SXXI del IMSS. Dado el carácter observacional del estudio, el manejo de cada uno de los pacientes correspondió a los médicos tratantes en cada hospital. Los pacientes o sus representantes legales recibieron la información pertinente para poder otorgar o no, su consentimiento a participar en el estudio, a través de la firma de la carta de consentimiento informado. Se incluyeron pacientes del sexo femenino y del masculino, con rango de edad de 18 a 80 años con diagnóstico de Pancreatitis Aguda (Ver Anexo con los criterios diagnósticos de la Pancreatitis Aguda). La gravedad de la enfermedad se determinó de acuerdo a los criterios de Atlanta (Ver Anexo de los Criterios de Atlanta). Los pacientes con pancreatitis aguda incluidos en el presente estudio tuvieron menos de 72 horas de evolución de iniciado el padecimiento. Se excluyeron a los pacientes con más de 72 horas de evolución, a embarazadas, pacientes conocedores de portar VIH o Virus de Hepatitis B o C, pacientes en tratamiento con inmunosupresores y aquellos pacientes que por razones técnicas no pudieron procesarse las muestras en forma adecuada. Durante el período de abril a agosto de 2008 se incluyeron y analizaron 29 pacientes con pancreatitis aguda. El promedio de edad fue de 43 años con un rango de 17 a 79 años. En relación a su distribución por sexo se incluyeron 18 mujeres (62%) y 11 hombres (38%). En relación a la etiología 22 pacientes se clasificaron de origen biliar (75%), un paciente con pancreatitis de origen alcohólica (4%), un paciente con pancreatitis por hipertrigliceridemia (4%) y cinco pacientes se catalogaron como pancreatitis aguda idiopática (17%). En cuanto a la gravedad de la pancreatitis, 18 pacientes se clasificaron con pancreatitis aguda leve (PAL) (62%) y 11 pacientes con pancreatitis aguda

grave (PAG) (38%). La mortalidad de nuestros pacientes fue de cinco (17%), todos clasificados como PAG. Dentro de éstos, cuatro presentaron sepsis y uno falleció por insuficiencia respiratoria a las pocas horas de su ingreso. Dentro de los pacientes con PAL no hubo fallecimientos. Se colectaron muestras de sangre en tubos con y sin heparina, tomadas al ingreso, a las 48 horas y a las 120 horas de su internamiento.

**TREM-1 se incrementa en pacientes con pancreatitis aguda, independientemente de su gravedad o presencia de infecciones.**

Estudios previos asocian el incremento de la expresión de TREM-1 con procesos infecciosos, y algunos de ellos reportan que patologías no infecciosas no generan incremento en la expresión de esta molécula (63; 63; 64). Isibasi y colaboradores, demostraron que TREM-1 es una molécula que aumenta su expresión en pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos con patología abdominal gastrointestinal (65). En el presente trabajo se analizó la expresión de TREM-1 en pacientes portadores de Pancreatitis Aguda. Se dividieron los pacientes en dos grupos de acuerdo a la gravedad de la enfermedad, Pancreatitis Aguda Leve y Pancreatitis Aguda Grave; y se analizó la expresión de TREM-1. Los resultados se compararon con los valores de expresión de sujetos sanos. La expresión de TREM-1 se incrementó de forma significativa en ambos grupos de pacientes (PAL y PAG) con respecto al grupo de personas sanas, sin embargo, no se encontraron diferencias entre grupos (PAL y PAG) ni en relación al momento de la toma (Fig. 1A). Cuando se analizó la expresión de TREM-1 más tarde en su evolución, a las 120 horas de su internamiento (4ta muestra), persistía la diferencia estadística entre ambos grupos de pacientes con respecto al grupo de sanos, sin embargo, tampoco se encontró diferencia entre grupos en relación a la gravedad de de la enfermedad (Fig. 1B).

A continuación se estudió la expresión de TREM-1 en pacientes con PAG en relación con la sobrevida. Aunque existe una tendencia hacia el incremento de TREM-1 en pacientes con PAG que fallecen, el análisis realizado no logra demostrar diferencias estadísticas en la expresión de esta molécula entre pacientes que fallecieron con respecto a los que sobrevivieron

(Fig. 1C). Lo mismo sucede cuando se analizan las muestras tardías de este grupo de pacientes en el mismo contexto de la sobrevida (Fig. 1D).

Uno de los objetivos del presente análisis era demostrar que el incremento de TREM-1 se asociaba con la presencia de infecciones en pacientes con pancreatitis aguda. Sin embargo, los valores de TREM-1 en pacientes que presentaron infección fueron similares a los que se presentaron en pacientes sin infección, tanto en etapas tempranas (al ingreso), como a las 120 hrs. Lo mismo se observó a las 48 horas (dato no mostrado) (Fig. 1E).

Estos resultados indican que el incremento de TREM-1 se asocia con padecimientos inflamatorios como la pancreatitis aguda, independientemente de la gravedad de la enfermedad y de la presencia o no de infecciones.

### **La expresión de MHCII disminuye en pacientes con Pancreatitis Aguda Grave.**

Se sabe que la disminución en la expresión de moléculas de clase II del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHCII) puede asociarse con el desarrollo de procesos infecciosos y en el período postoperatorio de pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos que no presentan infecciones (66;67). En nuestro estudio fue evidente que los pacientes con pancreatitis aguda leve tuvieron diferente expresión de MHCII que aquellos con pancreatitis aguda grave. La expresión de MHCII en pacientes con PAL en la primera muestra fue menor que en personas sanas, con una diferencia estadísticamente significativa, sin embargo, la expresión se incrementa en la segunda muestra y se conserva para la cuarta muestra a las 120 horas (Fig. 2A y 2B). En el caso de los pacientes con PAG la disminución en la expresión de MHCII es más acentuada que en la primera muestra de los pacientes con PAL; diferencia que aumenta en la segunda muestra y en la cuarta muestra. Encontramos una diferencia estadísticamente significativa en la cuarta muestra de pacientes con PAL y PAG (Fig. 2B).

Se analizó la expresión de MHCII en pacientes con PAG en relación con la sobrevida. Pese a que existe diferencia en la expresión de MHCII en la segunda y la cuarta muestra de pacientes con PAG que fallecen y personas sanas (Fig. 2C y 2D), no fue evidente esta diferencia entre pacientes con PAG vivos y muertos, en ninguna de las muestras analizadas al ingreso, a las 48 horas o a las 120 horas (Fig.2C y 2D).

Finalmente se analizó la expresión de MHCII en pacientes que desarrollaron infección y se observó que aquellos pacientes que desarrollaron procesos infecciosos mostraron valores inferiores de MHCII en la cuarta muestra, comparado con aquellos pacientes no infectados y con el grupo de sanos. Nuestros hallazgos reflejan que la expresión de MHCII disminuye en relación con la severidad de la enfermedad y en casos de pacientes que desarrollan infecciones. Sin embargo, pese a la disminución de la expresión en pacientes que fallecen con respecto a los sanos, la reducción de la expresión no se asocia con el desenlace.

### **La pancreatitis aguda grave se asocia con el incremento de citocinas pro y anti-inflamatorias de forma simultánea.**

La pancreatitis aguda es un padecimiento inflamatorio que se caracteriza, desde el punto de vista molecular, por la producción de mediadores proinflamatorios del tipo del TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 entre otras. Estas mismas tienen efecto sobre la producción de mediadores con funciones anti-inflamatorias, como IL-10. En nuestros pacientes fue evidente que el incremento de IL-6 se asociaba con la presencia de la forma grave de la enfermedad, especialmente en la primera toma, al ingreso del paciente; encontrando diferencia estadísticamente significativa con respecto a los sujetos sanos. También se encontró diferencia en la segunda muestra de este grupo de pacientes (Fig. 3A). Llama la atención que en forma simultánea se muestran incrementados los niveles de IL-6 e IL-10 en pacientes con PAG durante la primera muestra, y un descenso en sus concentraciones para la segunda muestra a las 48 horas (Fig. 3A y 3B).

El incremento en las concentraciones de IL-6 en los casos de pacientes con y sin infección también tiene un comportamiento interesante, ya que se encuentra elevada la producción de IL-6 en la primera muestra de pacientes no infectados, con diferencia estadísticamente significativa con respecto al valor de las personas sanas, sin embargo, esta diferencia desaparece en el mismo grupo de pacientes que no se infectaron, para la cuarta muestra. En el caso de los pacientes que se infectaron el incremento en la concentración de IL-6 es persistente, aunque los valores que existen entre la primera muestra y la cuarta muestra no hay diferencia estadísticamente significativa.

## **Discusión.**

El incremento en la expresión de TREM-1 en pacientes portadores de pancreatitis aguda, refuerza los hallazgos reportados previamente por Isibasi y colaboradores en pacientes con patología abdominal sometidos a procedimientos quirúrgicos. En su trabajo, Isibasi reporta que la expresión de TREM-1 fue mayor en pacientes portadores de Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) que en los pacientes que no presentaban SIRS, antes de la realización del procedimiento quirúrgico. Esta diferencia se hizo más aparente en el estadio postoperatorio (65). La pancreatitis aguda es una enfermedad que representa un modelo clásico de inflamación. Aunque se tienen identificados algunos factores que predisponen al desarrollo de la enfermedad (cálculos, alcohol, etc.), la etiopatogenia de la misma aún está por definirse; sin embargo, uno de los eventos más tempranos es la liberación de mediadores inflamatorios de las células acinares pancreáticas y la consecuente generación de la respuesta inflamatoria local. Cuando este proceso repercute en forma sistémica se manifiesta clínicamente como SIRS, que se caracteriza por la presencia de dos o más de las siguientes condiciones de acuerdo al American College of Chest Physicians y The Society of Critical Care Medicine: temperatura  $>38^{\circ}\text{C}$  o  $<36^{\circ}\text{C}$ ; frecuencia cardíaca  $>90$  latidos/min; frecuencia respiratoria  $>20$  respiraciones/min o una  $\text{PaCO}_2 <32$  torr ( $<4.3$  kPa); leucocitos  $>12,000$  cel/mm<sup>3</sup>,  $<4000$  cel/mm<sup>3</sup> o  $>10\%$  de formas inmaduras <sup>(6)</sup>.

Los actuales resultados muestran congruencia con otros reportes en cuanto a la incidencia de la pancreatitis aguda leve y la grave. También en relación con la etiología de la enfermedad y lo mismo en relación con la mortalidad de la misma. En el aspecto molecular, nuestros resultados sugieren que TREM-1 es un receptor involucrado en situaciones de estrés como es el caso de los pacientes portadores de pancreatitis aguda. Llama la atención que el incremento de este receptor sea similar en los casos de pancreatitis aguda leve que en aquellos con pancreatitis aguda grave. Este hecho es importante, ya que actualmente uno de los objetivos en el estudio de la inflamación desde el punto de vista molecular, es la búsqueda de marcadores biológicos que nos

ayuden a identificar en forma temprana el tipo de evolución que los pacientes tendrán, concretamente identificar aquellos pacientes que desarrollarán la forma grave de la enfermedad. En este sentido, Wang y cols. cuantificaron el RNAm de TREM-1 en pacientes con pancreatitis aguda y encontraron mayor cantidad del mensajero en pacientes portadores de la enfermedad que en sanos, sin embargo, si encontraron mayor cantidad del RNAm en aquellos que presentaban la forma grave de la enfermedad, concluyendo que este incremento correlacionaba con la gravedad de la pancreatitis <sup>(68)</sup>. Nuestros resultados contrastan con los de Wang y colaboradores, pues aunque encontramos incremento en la expresión del receptor, no logramos establecer una diferencia en relación con la severidad. Cabe mencionar que en el presente trabajo no se determinó el RNAm, y que el incremento de éste no implica necesariamente el incremento de la proteína en la superficie de los monocitos estudiados en nuestros pacientes. También se ha observado que la fracción soluble de TREM-1 ha sido propuesta como un biomarcador pronóstico. Yasuda y cols. reportaron recientemente que el incremento en las concentraciones séricas del receptor soluble de TREM-1 correlaciona con la severidad de la pancreatitis aguda y con la detección oportuna de la disfunción orgánica (69). Nuestros resultados sin embargo, muestran que esta molécula no es útil en la diferenciación entre la forma leve de la grave de la enfermedad.

El incremento en la expresión de TREM-1 en pacientes con pancreatitis aguda es esperado, ya que una de las funciones conocidas de TREM-1 es amplificar la respuesta inflamatoria a través de su ligando, aún desconocido, pero que puede ser una molécula endógena que se libera durante el daño celular asociado a la pancreatitis aguda. Este tipo de moléculas endógenas conocidas como Alarminas, alertan al organismo sobre la presencia de daño celular o tisular y amplifican la respuesta inflamatoria. En el caso de la pancreatitis aguda en donde se sabe que existe daño de células acinares por la acción de enzimas proteolíticas, es posible que también pueda liberarse el ligando de TREM-1, que al unirse al receptor, amplifica la respuesta inflamatoria.

Una de las complicaciones más temidas por la magnitud del daño que puede representar en los pacientes con pancreatitis aguda, es la contaminación

del paciente por agentes infecciosos. TREM-1 se ha propuesto como biomarcador temprano de la presencia de complicaciones infecciosas. En los pacientes analizados con la presencia de infecciones, la expresión de TREM-1 no fue diferente de aquellos pacientes que no presentaron complicaciones infecciosas. Estos resultados también van en concordancia con lo reportado por Isibasi y Adib Conquy. Este último y su grupo, evaluaron los niveles de TREM-1 soluble y Procalcitonina en pacientes con SIRS sin sepsis. Pacientes sometidos a cirugía cardíaca a través de la colocación de puentes coronarios y pacientes con infarto cardíaco, fueron estudiados durante tres días. Como grupos control se incluyeron a pacientes con sepsis severa y personas sanas, controles positivos y negativos, respectivamente. Los niveles de TREM-1s y procalcitonina resultaron elevados en pacientes con sepsis y en pacientes que sobrevivieron al infarto o que fueron operados del corazón. En conclusión, TREM-1 soluble y la procalcitonina no resultaron ser específicos para infección y pueden estar elevados de forma significativa en procesos inflamatorios agudos sin infección <sup>(65; 70)</sup>. Recientemente Radsak y colaboradores publicaron sus resultados en relación a la fracción soluble de TREM-1 en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Esta es una enfermedad pulmonar que se considera sistémica y se asocia con el incremento de marcadores de inflamación a nivel sérico <sup>(71)</sup>.

La disminución en la expresión de MHCII es una condición que predispone al desarrollo de infecciones. Lo anterior, como se explicó antes, está en relación con la incapacidad de las células presentadoras de antígenos para presentar los antígenos patógenos a los linfocitos T. La inmunosupresión en pacientes con pancreatitis aguda se desarrolla en forma rápida, temprana e inesperada <sup>(72)</sup>. La mortalidad asociada con la pancreatitis aguda grave en estadios tardíos se asocia con la presencia de infecciones. Satoh y colaboradores evaluaron la expresión de HLA-DR (MHCII) en monocitos de sangre periférica para tratar de predecir el desarrollo de sepsis durante la pancreatitis aguda. Las determinaciones se hicieron al séptimo y al decimocuarto día del inicio de la enfermedad. La disminución persistente de MHCII se asoció con la presencia de sepsis en etapas tardías de la enfermedad, mientras que aquellos que recuperaron las cifras normales no

desarrollaron sepsis <sup>(73)</sup>. En nuestros pacientes la disminución de la expresión de MHCII fue evidente con respecto a los sujetos sanos. Además se presentaron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de MHCII entre pacientes con PAL y la PAG, situación que puedo observarse especialmente cuando se evaluó la expresión de las moléculas a las 120 horas del internamiento entre pacientes con la forma leve con respecto a la grave. No existe un parámetro adecuado para predecir la mortalidad tardía de pacientes portadores de pancreatitis aguda. Sin embargo, se ha establecido la asociación entre la disminución en la expresión de MHCII y la forma grave de la pancreatitis aguda. Pese a lo anterior, la relación entre la expresión del MHCII y la mortalidad tardía en pacientes con pancreatitis aguda, no está clara. Ho YP y colaboradores encontraron una asociación entre la persistencia en la disminución de las MHCII y la mortalidad tardía en pacientes con la forma grave de la enfermedad; más aún, establecen un punto de corte de 52.3% de expresión en los monocitos en el décimo día de internamiento, como un buen predictor de mortalidad tardía en estos pacientes <sup>(73; 74)</sup>. Pese a lo anterior, nuestros resultados no pueden mostrar diferencia en la expresión de MHCII entre pacientes con PAG que viven con respecto a los que mueren. Esta incapacidad para encontrar diferencias en la expresión de MHCII entre los que sobreviven con respecto a los que fallecen, lo observan Mentula y colaboradores en pacientes con falla orgánica <sup>(75)</sup>.

El receptor antagonista de IL-1, IL-6 e IL-10, son citocinas que correlacionan inversamente con la disminución en la expresión de MHCII <sup>(75)</sup>. En la presente serie de pacientes observamos que los niveles séricos de IL-6 e IL-10 se encuentran incrementados de forma significativa en pacientes con la forma grave de la enfermedad con respecto a los sanos. Este incremento se hizo más evidente en la primera muestra que en la segunda. IL-6 se induce junto con citocinas pro-inflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  en situaciones de alarma. Es también importante en la inducción de proteínas de fase aguda, sin embargo, además de sus propiedades pro-inflamatorias, IL-6 es una citocina que puede considerarse anti-inflamatoria <sup>(76)</sup>. En nuestros pacientes, IL-6 e IL-10 se encontraron incrementadas desde el ingreso en los pacientes con pancreatitis aguda grave, pero no en la forma leve. La falla orgánica puede ser

predicha por la combinación de IL-6 e IL-10 con una sensibilidad del 95% y una especificidad de 88% <sup>(75)</sup>. Aunque el objetivo de nuestro estudio no fue valorar la presencia de falla orgánica, si fue evidente que solo los pacientes con la forma grave de la enfermedad presentaron este patrón comentado. También la disminución de la expresión de MHCII puede formar parte de un patrón anti-inflamatorio, por lo que una reacción anti-inflamatoria desde las primeras etapas de internamiento de pacientes con pancreatitis aguda grave, podrían predecir el desarrollo de complicaciones en estos pacientes. Esto se puede ver en nuestros pacientes que desarrollaron infecciones, que fue evidente cuando MHCII en la cuarta determinación se encontraba con cifras francamente bajas con respecto a los pacientes no infectados. Estos mismos pacientes complicados con infecciones presentaron incremento en las concentraciones de IL-6 e IL-10, con respecto a los sanos, tanto en la primera como en la cuarta muestra.

## **Conclusiones.**

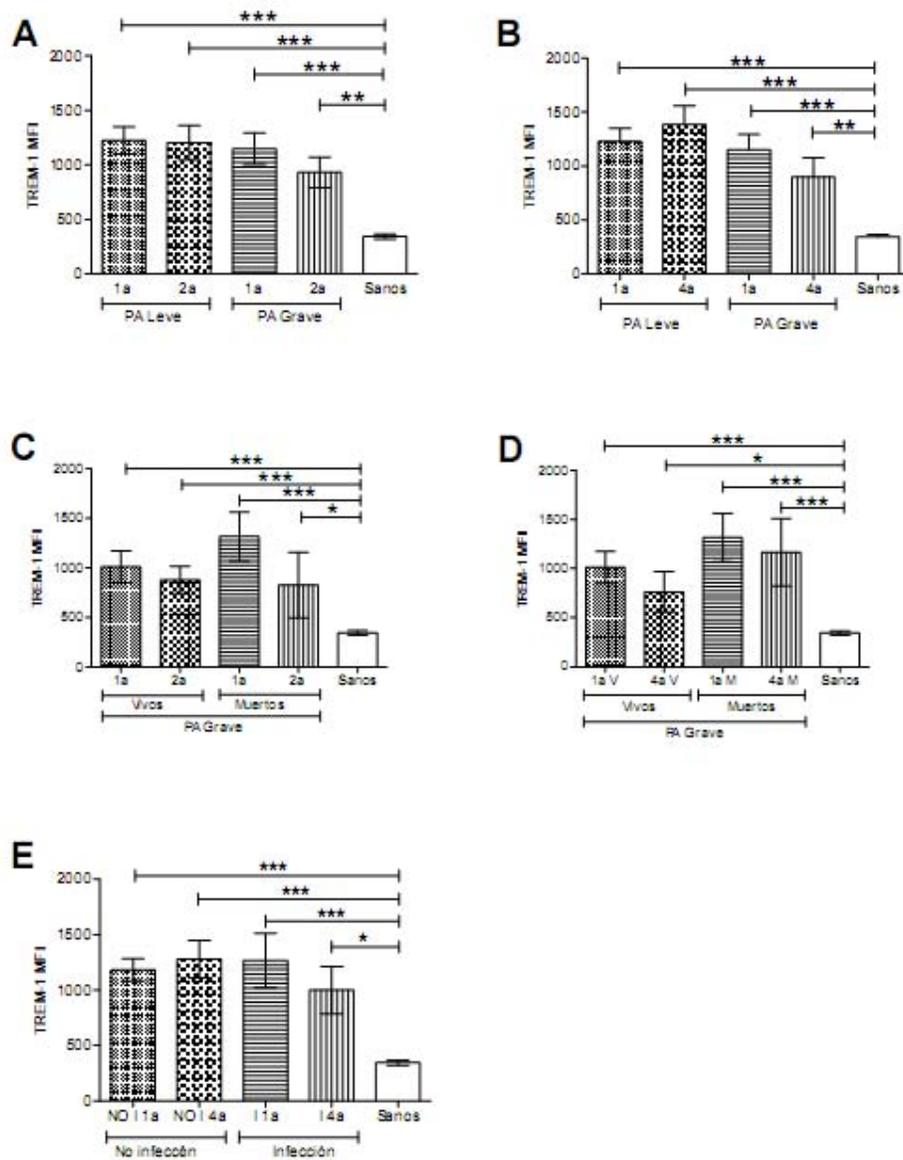
La presencia del CARS en nuestros pacientes se observó desde la primera muestra al ingreso. Lo anterior observado por el incremento de IL-10. Es probable que la elevación sérica de IL-10 desde tempranas etapas de la enfermedad en pacientes con la forma grave, pudiera explicar la reducción en el porcentaje de expresión de MHCII para la cuarta muestra.

El incremento en la expresión de TREM-1 en pacientes con Pancreatitis aguda, está en relación con un mecanismo regulatorio de la respuesta inflamatoria, sin embargo, este incremento no se asoció con la presencia de infección ni con el desenlace.

El incremento de las concentraciones de citocinas como IL-6 e IL-10 se asocia con la gravedad del padecimiento.

La disminución en la expresión de MHCII puede estar en relación con la presencia de infección.

## Figuras



**Figura 1. TREM-1 se incrementa en pacientes con pancreatitis aguda, independientemente de su gravedad o presencia de infecciones.**

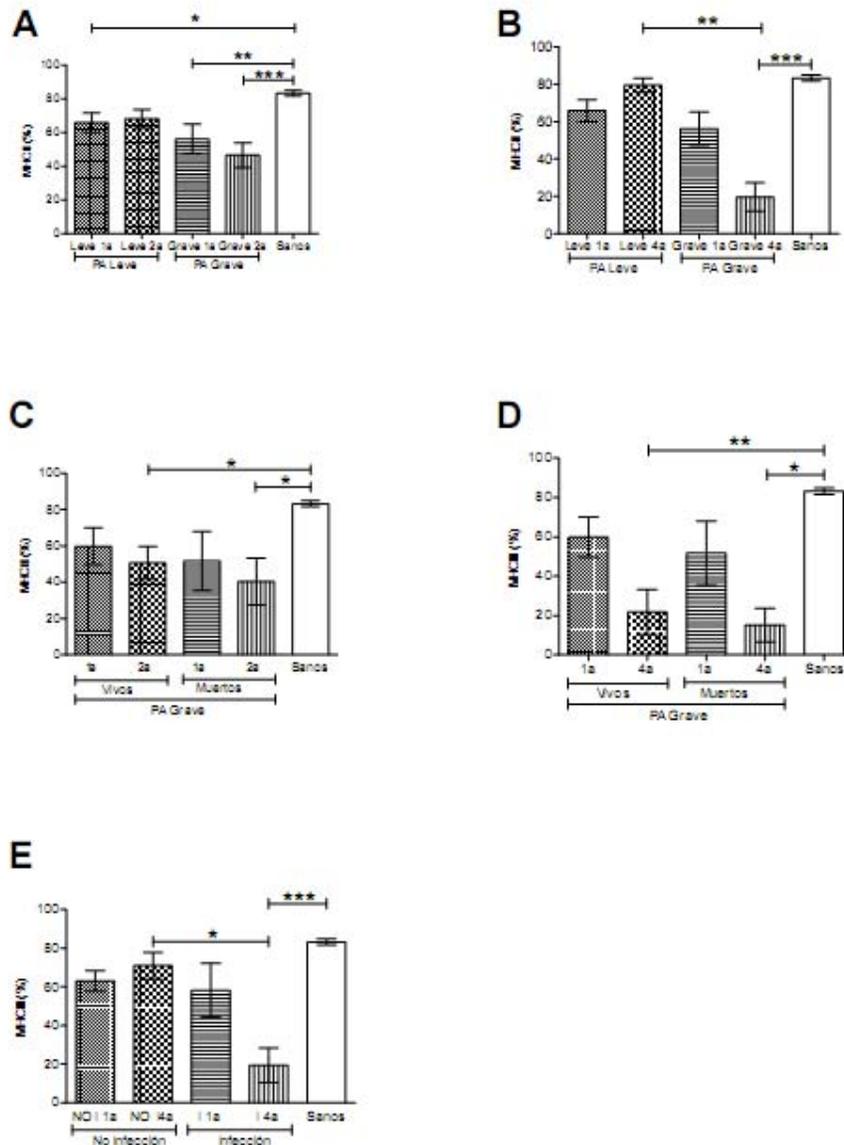
Se analizó la expresión de TREM-1 en pacientes portadores de Pancreatitis Aguda. Se dividieron los pacientes en dos grupos de acuerdo a la gravedad de la enfermedad, Pancreatitis Aguda Leve y Pancreatitis Aguda Grave y se analizó la expresión de TREM-1. Los resultados se compararon con los valores de expresión de sujetos sanos. La expresión de TREM-1 se incrementó de forma significativa en ambos grupos de pacientes (PAL y PAG)

con respecto al grupo de personas sanas: PAL 1ª y 2ª muestra vs Sanos  $P<0.001$ ; PAG 1ª vs Sanos  $P<0.001$ , PAG 2ª vs Sanos  $P<0.01$ ; sin embargo, no se encontraron diferencias entre grupos (PAL y PAG)  $P>0.05$  (Fig. 1A). La expresión de TREM-1 a las 120 horas de su internamiento (4ta muestra), persistía la diferencia estadística entre ambos grupos de pacientes (PAL y PAG) con respecto al grupo de sanos, sin embargo, tampoco se encontró diferencia entre grupos en relación a la gravedad de de la enfermedad: PAL 4ª y PAG 4ª vs Sanos  $P<0.001$  y  $P<0.01$  respectivamente. PAL 4ª vs PAG 4ª  $P>0.05$  (Fig. 1B). ANOVA con prueba de Kruskal-Wallis y posprueba de Dunn.

La expresión de TREM-1 en pacientes con PAG en relación con la sobrevida. Aunque existe una tendencia hacia el incremento de TREM-1 en pacientes con PAG que fallecen, el análisis realizado no logra demostrar diferencias estadísticas en la expresión de esta molécula entre pacientes que fallecieron con respecto a los que sobrevivieron PAG vivos (1ª y 2ª) vs PAG muertos (1ª y 2ª)  $P>0.05$  (Fig. 1C). Lo mismo sucede cuando se analizan las muestras tardías de este grupo de pacientes en el mismo contexto de la sobrevida  $P>0.05$  (Fig. 1D). ANOVA con prueba de Kruskal-Wallis y posprueba de Dunn.

TREM-1 en pacientes con infección fue similar a los valores de TREM-1 sin infección, tanto en etapas tempranas ( 1ª al ingreso), como a las 120 hrs. (4ª). Lo mismo se observó a las 48 horas (dato no mostrado)  $P>0.05$  (Fig. 1E). ANOVA con prueba de Kruskal-Wallis y posprueba de Dunn.

**\*  $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  \*\*\* $P<0.001$**



**Figura 2. La expresión de MHCII disminuye en pacientes con Pancreatitis Aguda Grave.**

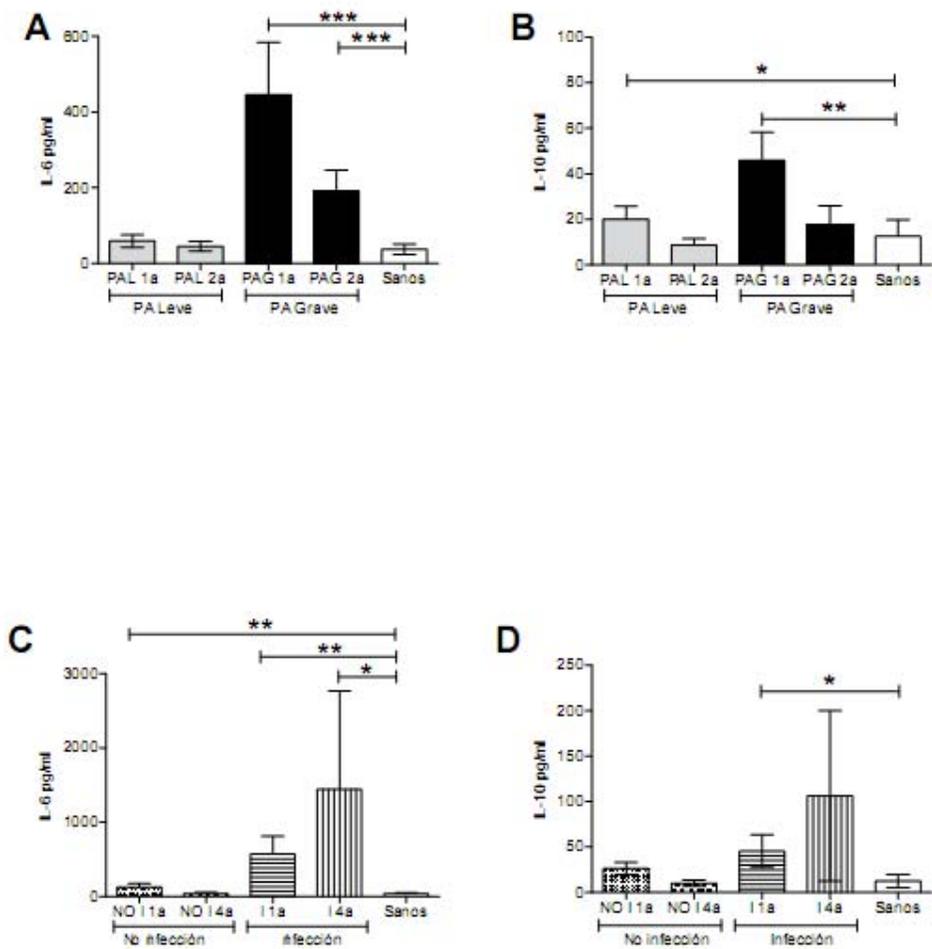
La expresión de MHCII en pacientes con PAL en la primera muestra fue menor que en personas sanas  $P < 0.05$ . Se encontró diferencia en la cuarta muestra de pacientes con PAL y PAG,  $P < 0.01$  (Fig. 2B). ANOVA Prueba de Kruskal-Wallis y posprueba de Dunn.

Se analizó la expresión de MHCII en pacientes con PAG en relación con la sobrevida. No fue evidente esta diferencia entre pacientes con PAG vivos y

mueritos, en ninguna de las muestras analizadas al ingreso, a las 48 horas o a las 120 horas  $P>0.05$  (Fig.2C y 2D). ANOVA Prueba de Kruskal-Wallis y posprueba de Dunn.

MHCII e infección. Se observó que pacientes que desarrollaron procesos infecciosos mostraron valores inferiores de MHCII en la cuarta muestra, comparado con aquellos pacientes no infectados y con el grupo de sanos  $P<0.05$  y  $P<0.001$  respectivamente. ANOVA Prueba de Kruskal-Wallis y posprueba de Dunn.

**\*  $P<0.05$  \*\* $P<0.01$  \*\*\* $P<0.001$**



**Figura 3. La pancreatitis aguda grave se asocia con el incremento de citocinas pro y anti-inflamatorias de forma simultánea.**

Fue evidente que el incremento de IL-6 se asociaba con la presencia de la forma grave de la enfermedad, en la primera toma  $P < 0.001$  PAG 1ª vs Sanos y PAG 2ª vs Sanos  $P < 0.001$  (Fig. 3A). IL-10 se incrementó en la 1ª muestra de los pacientes con PAL y PAG respectivamente, PAL 1ª vs Sanos  $P < 0.05$  y PAG 1ª vs Sanos  $P < 0.01$ . ANOVA Kruskal-Wallis con posprueba de Dunn.

IL-6 con infección se elevó en la primera muestra de pacientes no infectados ( $P < 0.01$  PA no infectados 1ª vs Sanos), esta diferencia desaparece en el mismo grupo de pacientes que no se infectaron, para la cuarta muestra

( $P > 0.05$  PA no infectados 4<sup>a</sup> vs Sanos). En el caso de los infectados la concentración de IL-6 es persistente ( $P < 0.01$  PA infectados 1<sup>a</sup> vs Sanos;  $P < 0.05$  PA infectados 4<sup>a</sup> vs Sanos;  $P > 0.05$  PA infectados 1<sup>a</sup> vs 4<sup>a</sup>) (Fig. 3C). En el caso de IL-10, se encontró diferencia entre la 1<sup>a</sup> muestra de pacientes infectados con respecto a sanos  $P < 0.05$  (Fig. 3D). ANOVA Prueba de Kruskal-Wallis con posprueba de Dunn.

**\*  $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$**

## Anexos

### Escala de APACHE II

Variable fisiológica	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperatura rectal °C	> 41	39-40.9		38.5 -38	36- 38.4	34- 35.9	32- 33	30-31	<29. 9
Presión arterial media mmHg.	>160	130- 159	110- 129		70- 109		50- 69		<49
Frecuencia cardiaca	>180	140- 179	110- 139		70- 109		55- 69	40-54	<39
Frecuencia respiratoria	>50	35-49		25- 34	12- 24	10-11	6-9		<5
Oxigenación: A-aDO <sub>2</sub> ó PaO <sub>2</sub> (mmHg.) a FiO <sub>2</sub> >0.5 con A-aDO <sub>2</sub>	>500	350- 499	200- 349		<200				
b FiO <sub>2</sub> <0.5 con PaO <sub>2</sub>					PO <sub>2</sub> > 70	PO <sub>2</sub> 61-70		PO <sub>2</sub> 55-60	PO <sub>2</sub> <55
pH arterial	> 7.7	7.6- 7.69		7.5- 7.59	7.33- 7.49		7.25- 7.32	7.15- 7.24	< 7.15
Sodio sérico mMol/L	> 180	160- 179	155- 159	150- 154	130- 149		120- 129	111- 119	< 110
Potasio sérico mMol/L	> 7	6-6.9		5.5- 5.9	3.5- 5.4	3-3.4	2.5- 2.9		<2.5
Creatinina sérica (mg/100ml) Doble puntuación con (IRA)*	>3.5	2-3.4	1.5- 1.9		0.6- 1.4		<0.6		
Hematocrito	> 60		50- 59.9	46- 49.9	30- 45.9		20- 29.9		<20
Leucocitos (mm <sup>3</sup> )	>40		20- 39.9	15- 19.9	3- 14.9		1-2.9		<1
Escala Glasgow: 15-valor actual									
APS= suma de las 12 variables									
HCO <sub>3</sub> sérico	> 52	41-51.9		32- 40.9	22- 31		18- 21.9	15-17	<15

\*IRA= Insuficiencia renal aguda.

B: Asignación de la puntuación por edad: <44-0 puntos, 45 a 54-2 puntos, 55 a 64-3 puntos, 65 a 74-5 puntos, > 75-6 puntos.

C: Asignación de la puntuación por enfermedad crónica: Paciente con antecedentes de falla orgánica sistémica severa o inmunocomprometido:

a) para pacientes no operados o bien operados de emergencia 5 puntos.

b) para pacientes postoperados de forma electiva 2 puntos.

Definiciones: Antecedentes previos hospitalarios de insuficiencia orgánica o inmunosupresión, adecuarse a los siguientes criterios.

Hígado: cirrosis corroborada por biopsia e hipertensión portal documentada (antecedentes de sangrado gastrointestinal, falla hepática o encefalopatía hepática).

Cardiovasculares: De acuerdo a la NYHA Clase IV. Respiratorio: Enfermedad obstructiva crónica, restrictiva o enfermedad vascular, que condicionan restricción estricta de ejercicio. Renal: diálisis crónica. Inmunocompromiso: Antecedente de haber recibido terapia supresiva o enfermedad con disminución en la resistencia a la infección.

APACHE SCORE II es la sumatoria de A + B + C (A= APS; B= edad; C= enfermedad crónica)

## HOJA DE RECOLECCION DE DATOS.

**“Análisis del comportamiento molecular de TREM-1, MHCII y citocinas anti-inflamatorias,  
en la pancreatitis aguda.”**

Nombre.						
Filiación						
Iniciales Paciente						
Fecha ingreso Hospital			Fecha primera toma			
Edad			Teléfono			

### Antecedentes personales no patológicos

Peso			Talla			1 Hombre	2 Mujer		
1 Tabaco	2 Alergias	3 Alcohol	4 Transf.	5 Toxicom.					
6 Ninguno				Otros					

### Antecedentes personales patológicos

Diabetes M			
Hipertensión Arterial			
Cardiopatía isquémica			
Cirugías			

### Padecimiento actual

Diagnóstico de Ingreso									
1.									
2.									
Fecha de Pancreatitis									
Con SRSI	Si		No		Con Sepsis	Si		No	

**Resumen estancia hospitalaria del paciente**

Días de estancia			
Fecha de alta			
Motivo del alta	1 Recuperación	2 Defunción	

**Medicamentos.**

	No. Dosis	Fecha	Observaciones

**Nutrición.**

Tipo de nutrición	Observación	Fecha de inicio

**Transfusiones.**

Fecha	Plasma	Paquete	Plaquetas	Otros

**Laboratorio: producto/día**

Producto					
Hemoglobina					
Calcio					
Glucosa					
Urea					
Creatinina					
Prot C reac.					

Plaquetas					
TP					
TTP					
BUN					
Leucocitos					
Linfocitos					
Monocitos					
Neutrófilos					
Temperatura					
F C					
F R					
Pa O2					
Pa CO2					
ALT					
AST					
GGT					
Fosf Alc					
Lipasa					
Amilasa					

**Procedimientos y estudios**

<b>Tipo de procedimiento</b>	<b>Fecha</b>	<b>Observaciones/Motivo</b>
<b>Tomografía</b>		
<b>Catéter central</b>		
<b>Ultrasonido</b>		

<b>Cultivos</b>		
-----------------	--	--

**Parámetros del paciente.**

	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>
<b>APACHE</b>					
<b>SOFA</b>					
<b>SIRS</b>					

**Cirugías realizadas**

Procedimiento	Fecha	Observaciones referentes al procedimiento

**Complicaciones**

Tipo	Fecha	Observaciones referentes al procedimiento

## **Criterios de Atlanta.**

### **Pancreatitis aguda:**

Definición: La pancreatitis aguda es un proceso inflamatorio del páncreas, que involucra otros tejidos regionales u órganos distantes.

Manifestaciones clínicas: inicia de forma súbita con dolor en abdomen superior, de intensidad variable. Se acompaña de vomito, fiebre, taquicardia leucocitosis y elevación de enzimas pancreáticas en orina y sangre.

### **Pancreatitis Aguda Grave:**

Definición: pancreatitis asociada con falla orgánica y/o complicaciones locales, como necrosis, abscesos o pseudoquistes.

Manifestaciones clínicas: los hallazgos abdominales incluyen, aumento en la sensibilidad, rebote abdominal, distensión, disminución o ausencia de ruidos intestinales.

La PA grave se caracteriza por tres o más criterios de Ranson u ocho o más de APACHE II.

La falla orgánica se define como choque (presión sistólica menor a 90 mmHg), insuficiencia pulmonar ( $PaO_2 \leq 60$  mmHg), falla renal (creatinina mayor a 2 mg/dl, después de rehidratación) o hemorragia gastrointestinal (mas de 500 ml en 24 horas). Puede haber complicaciones sistémicas como coagulación intravascular diseminada (plaquetas  $\leq 100,000$ , fibrinógeno  $\leq 1.0$  g/L, productos de degradación de la fibrina  $\geq 80$   $\mu$ g/ml) o alteraciones metabólicas severas (calcio  $\leq 7.5$  mg/dl).

### **Pancreatitis Aguda Leve:**

Definición: PA asociada a falla orgánica mínima, con una recuperación favorable.

Manifestaciones clínicas: los pacientes responden a la administración de fluidos con una normalización de signos físicos y valores de laboratorio. El

parénquima pancreático es normal en la tomografía computada dinámica (TCD).

#### Colección Líquida Aguda:

Definición: Colecciones líquidas durante el curso de la pancreatitis aguda, localizadas en el páncreas o cerca de él. Son usualmente descubiertas por técnicas de imagen.

#### Necrosis Pancreática:

Definición: La necrosis pancreática es un área focal o difusa de parénquima pancreático no viable, que se asocia con necrosis grasa peripancreática.

Manifestaciones clínicas: la TCD es el estándar de oro para el diagnóstico.

Zonas focales o difusas de márgenes no bien definidos de parénquima pancreático, mayores a 3 cms de largo o que involucran más del 30 % del páncreas son criterios para el diagnóstico por tomografía computada (TC).

#### Seudoquiste:

Definición: un pseudoquiste es una colección de jugo pancreático limitado por una pared de tejido fibroso o de granulación, el cual se presenta como una consecuencia de pancreatitis aguda, trauma pancreático o pancreatitis crónica.

Manifestaciones clínicas: El pseudoquiste en pacientes con pancreatitis aguda es ocasionalmente palpable, pero se descubre más frecuentemente por técnicas de imagen, como TC y ultrasonido (USG), en los cuales se observa una imagen redonda u ovalada con una pared bien definida.

#### Absceso Pancreático:

Definición: un absceso pancreático es una colección de material purulento intra-abdominal, circunscrita usualmente en la proximidad al páncreas, con o sin necrosis pancreática, que resulta de la PA o trauma pancreático y la presencia de pus con un cultivo positivo para bacterias u hongos.

México, D. F., a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200 \_\_\_\_.

Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, Hospital de Especialidades CMN SXXI, Hospital General SSA e Instituto Nacional de Ciencias Médicas y la Nutrición.

### **Carta de consentimiento informado**

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado:

“Análisis del comportamiento molecular de TREM-1, MHCII y citocinas anti-inflamatorias, en la pancreatitis aguda.

El objetivo del estudio es comprender mejor la respuesta inflamatoria en pacientes con pancreatitis aguda. Esto se logrará mediante la determinación de citocinas en suero (IL-10) y otras moléculas en la superficie de las células sanguíneas (TREM-1, HLA-DR). Se me ha explicado que mi participación consistirá en la donación de 30 mL de sangre venosa, distribuidas en 5 tomas e 6 mL cada una, con intervalo de cada 48 horas, entre una y otra. La sangre se obtendrá mediante punción en vena periférica o a través de catéter central.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, y molestias, que se reducen a la incomodidad derivada de la punción en venas periféricas, pero que, finalmente, no pondrán en riesgo mi vida. Podrán hacer tomas de los catéteres intravenosos que me han sido puestos para el manejo rutinario de mi enfermedad. Yo no obtendré beneficio al participar en este protocolo, en cambio, el conocimiento generado a través del presente estudio, podrá retribuir en mejorar algunos aspectos terapéuticos de mi enfermedad que, finalmente, podrán ser beneficiosos para los pacientes en similares circunstancias.

El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo de la Institución. Así mismo, podré ser retirado del estudio en caso de que cumpla con alguno de los criterios de exclusión.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Podré contactar al investigador responsable en el teléfono 56-27-69-15 del Dr. Armando Isibasi.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Dr. Armando Isibasi Araujo

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Testigo

México, D. F., a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200 \_\_\_\_.

Carta de consentimiento informado de la persona legalmente responsable. Por medio de la presente acepto que participe \_\_\_\_\_, cuyo parentesco conmigo es \_\_\_\_\_, en el proyecto de investigación titulado: "Análisis del comportamiento molecular de TREM-1, MHCII y citocinas anti-inflamatorias, en la pancreatitis aguda.

El objetivo del estudio es comprender mejor la respuesta inflamatoria en pacientes con pancreatitis aguda. Esto se logrará mediante la determinación de citocinas en suero (IL-6 e IL-10) y otras moléculas en la superficie de las células sanguíneas (TREM-1, HLA-DR). Se me ha explicado que la participación consistirá en la donación de 30 mL de sangre venosa, distribuidas en 5 tomas de 6 mL cada una, con intervalo de 48 horas, entre una y otra. La sangre se obtendrá mediante punción en vena periférica o a través de catéter central.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, y molestias; que se reducen a la incomodidad derivada de la punción en venas periféricas, pero sin que esto pueda poner en riesgo la vida. Se podrán hacer tomas del catéter intravenoso que fue instalado para el manejo rutinario de la enfermedad. No se obtendrá beneficio económico al participar en este protocolo, en cambio, el conocimiento generado a través del presente estudio, podrá retribuir en mejorar algunos aspectos terapéuticos de la enfermedad que, finalmente, podrán ser beneficiosos para los pacientes.

El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con el tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirar del estudio a mi paciente, en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo de la Institución. Así mismo, mi paciente podrá ser retirado del estudio en caso de que cumpla con alguno de los criterios de exclusión.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se identificará a mi paciente en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio, y de que los datos relacionados con su privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a su permanencia en el mismo.

Podré contactar al investigador responsable en el teléfono 56-27-69-15 del Dr. Armando Isibasi.

---

Nombre y firma del paciente

---

Dr. Armando Isibasi Araujo

## Bibliografía

1. Ulloa L. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. *Nat.Rev.Drug Discov.* 2005; 4(8)673-684.
2. Mery CM, Rubio V, Duarte-Rojo A, et al. Android fat distribution as predictor of severity in acute pancreatitis. *Pancreatology.* 2002; 2(6)543-549.
3. Swaroop VS, Chari ST, Clain JE. Severe acute pancreatitis. *JAMA* 2004;291(23)2865-2868.
4. Pascual-Ramos V, Duarte-Rojo A, Villa AR, et al. Systemic lupus erythematosus as a cause and prognostic factor of acute pancreatitis. *J.Rheumatol.* 2004; 31(4)707-712.
5. Karne S, Gorelick FS. Etiopathogenesis of acute pancreatitis. *Surg.Clin.North Am.* 1999; 79(4)699-710.
6. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20(6)864-874.
7. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med.* 1996; 24(7)1125-1128.
8. Sakorafas GH, Tsiotos GG, Sarr MG. Extrapancreatic necrotizing pancreatitis with viable pancreas: a previously under-appreciated entity. *J.Am.Coll.Surg.* 1999; 188(6)643-648.

9. Isenmann R, Beger HG. Natural history of acute pancreatitis and the role of infection. *Baillieres Best.Pract.Res.Clin.Gastroenterol.* 1999; 13(2)291-301.
10. Bhatia M, Brady M, Shokuhi S, et al. Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *J.Pathol.* 2000; 190(2)117-125.
11. Ammori BJ, Fitzgerald P, Hawkey P, et al. The early increase in intestinal permeability and systemic endotoxin exposure in patients with severe acute pancreatitis is not associated with systemic bacterial translocation: molecular investigation of microbial DNA in the blood. *Pancreas* 2003; 26(1)18-22.
12. De Madaria E, Martínez J, Lozano B, et al. Detection and identification of bacterial DNA in serum from patients with acute pancreatitis. *Gut* 2005; 54(9)1293-1297.
13. Kelly JL, O'Sullivan C, O'Riordain M, et al. Is circulating endotoxina the trigger for the systemic inflammatory response syndrome seen after injury? *Ann.Surg.* 1997; 225(5)530-541.
14. Murphy TJ, Paterson HM, Kriynovich S, et al. Linking the "two-hit" response following injury to enhanced TLR4 reactivity. *J.Leukoc.Biol.* 2005; 77(1)16-23.
15. Medzhitov R, Janeway C, Jr. The Toll receptor family and microbial recognition. *Trends Microbiol.* 2000; 8(10)452-456.
16. Akira S. Mammalian. Toll-like receptors. *Curr.Opin.Immunol.* 2003; 15(1)5-11.

17. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, et al. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001; 410(6832)1099-1103.
18. Ishii KJ, Akira S. Toll-like Receptors and Sepsis. *Curr.Infect.Dis.Rep.* 2004; 6(5)361-366.
19. Medzhitov R, Janeway CA, Jr. decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 2002; 296(5566)298-300.
20. Wagner H. Interactions between bacterial CpG-DNA and TLR9 bridge innate and adaptive immunity. *Curr.Opin.Microbiol.* 2002; 5(1)62-69.
21. Zhang D, Zhang G, Hayden MS, et al. A toll-like receptor that prevents infection by uropathogenic bacteria. *Science* 2004; 303(5663)1522-1526.
22. Akira S. Mammalian. Toll-like receptors. *Curr.Opin.Immunol.* 2003; 15(1)5-11.
23. Zhang G, Ghosh S. Toll-like receptor-mediated NF-kappaB activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *J.Clin.Invest* 2001; 107(1)13-19.
24. Abraham E. NF-kappaB activation. *Crit Care Med.* 2000; 28(4 Suppl) N100-N104.
25. Wang H, Yang H, Czura CJ, et al. HMGB1 as a late mediator of lethal systemic inflammation. *Am.J.Respir.Crit Care Med.* 2001; 164(10 Pt 1)1768-1773.

26. Levi M, ten Cate H, van der PT. Endothelium: interface between coagulation and inflammation. *Crit Care Med.* 2002; 30(5 Suppl) S220-S224.
27. Reinhart K, Bayer O, Brunkhorst F, et al. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit Care Med.* 2002; 30(5 Suppl) S302-S312.
28. Huber-Lang M, Sarma VJ, Lu KT, et al. Role of C5a in multiorgan failure during sepsis. *J.Immunol.* 2001; 166(2)1193-1199.
29. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. The enigma of sepsis. *J.Clin.Invest* 2003; 112(4)460-467.
30. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat. Med.* 2003;9(5)517-524.
31. Karima R, Matsumoto S, Higashi H, et al. The molecular pathogenesis of end toxic shock and organ failure. *Mol.Med.Today* 1999;5(3)123-132.
32. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med.* 1996;24(7)1125-1128.
33. Wolk K, Docke W, von B, V, et al. Comparison of monocyte functions after LPS- or IL-10-induced reorientation: importance in clinical immunoparalysis. *Pathobiology* 1999;67(5-6)253-256.
34. Hensler T, Hecker H, Heeg K, et al. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect.Immun.* 1997;65(6)2283-2291.

35. Wolk K, Docke W, von B, V, et al. Comparison of monocyte functions after LPS- or IL-10-induced reorientation: importance in clinical immunoparalysis. *Pathobiology* 1999;67(5-6)253-256.
36. Docke WD, Randow F, Syrbe U, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat.Med.* 1997;3(6)678-681.
37. Randow F, Syrbe U, Meisel C, et al. Mechanism of endotoxin desensitization: involvement of interleukin 10 and transforming growth factor beta. *J.Exp.Med.* 1995;181(5)1887-1892.
38. Docke WD, Randow F, Syrbe U, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat.Med.* 1997;3(6)678-681.
39. Abraham E. NF-kappaB activation. *Crit Care Med.* 2000;28(4 Suppl)N100-N104.
40. Frossard JL, Morel P, Pastor CM. Why clinical trials might succeed in acute pancreatitis when they failed in septic shock. *JOP.* 2003; 4(1)11-16.
41. Mergener K, Baillie J. Acute pancreatitis. *BMJ* 1998; 316(7124)44-48.
42. Robles-Diaz G. *Progresos en Gastroenterología, México, Masson Doyma,* 2001; 53-63.
43. Suazo-Barahona J, Robles-Diaz G. *Función de las citocinas en la pancreatitis: implicaciones fisiopatológicas. Pancreas, Mexico, McGraw Hill,* 2000;121-134.

44. Wilson PG, Manji M, Neoptolemos JP. Acute pancreatitis as a model of sepsis. *J.Antimicrob.Chemother.* 1998;41 Suppl A51-63.
45. Bruno MJ. Current insights into the pathogenesis of acute and chronic pancreatitis. *Scand.J.Gastroenterol.Suppl* 2001;(234)103-108.
46. Norman JG. New approaches to acute pancreatitis: role of inflammatory mediators. *Digestion* 1999;60 Suppl 157-60.
47. Widdison AL, Cunningham S. Immune function early in acute pancreatitis. *Br.J.Surg.* 1996;83(5)633-636.
48. Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am.J.Surg.* 1998;175(1)76-83.
49. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N.Engl.J.Med.* 2004;350(5)451-458.
50. Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J.Immunol.* 2000;164(10)4991-4995.
51. Bleharski JR, Kiessler V, Buonsanti C, et al. A role for triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in host defense during the early-induced and adaptive phases of the immune response. *J.Immunol.* 2003;170(7)3812-3818.

52. Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J.Immunol.* 2000;164(10)4991-4995.
53. Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes. *J.Immunol.* 2000;164(10)4991-4995.
54. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, et al. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 2001;410(6832)1103-1107.
55. Wang DY, Qin RY, Liu ZR, et al. Expression of TREM-1 mRNA in acute pancreatitis. *World J.Gastroenterol.* 2004; 10(18)2744-2746.
56. Gonzalez-Roldan N, Ferat-Osorio E, duna-Vicente R, et al. Expression of triggering receptor on myeloid cell 1 and histocompatibility complex molecules in sepsis and major abdominal surgery. *World J.Gastroenterol.* 2005;11(47)7473-7479.
57. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Bene MC, et al. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann.Intern.Med.* 2004;141(1)9-15.
58. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, et al. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 2001;410(6832)1103-1107.

59. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Bene MC, et al. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann.Intern.Med.* 2004; 141(1)9-15.
60. Wong-Baeza I, Gonzalez-Roldan N, Ferat-Osorio E, et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM-1) is regulated post-transcriptionally and its ligand is present in the sera of some septic patients. *Clin.Exp.Immunol.* 2006;145(3)448-455.
61. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20(6)864-874.
62. Bradley EL, III. A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992. *Arch.Surg.* 1993;128(5)586-590.
63. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Bene MC, et al. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann.Intern.Med.* 2004;141(1)9-15.
64. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N.Engl.J.Med.* 2004; 350(5)451-458.
65. Ferat-Osorio E, Esquivel-Callejas N, Wong-Baeza I, et al. The Increased Expression of TREM-1 on Monocytes Is Associated With Infectious and Noninfectious Inflammatory Processes. *J.Surg.Res.* 2008.

66. Metz J, Romijn JA, Endert E, et al. Interferon-gamma increases monocyte HLA-DR expression without effects on glucose and fat metabolism in postoperative patients. *J.Appl.Physiol* 2004;96(2)597-603.
67. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, et al. Surgical stress induces endotoxin hyporesponsiveness and an early decrease of monocyte mCD14 and HLA-DR expression during surgery. *Anesth.Analg.* 2001;92(5)1322-1326.
68. Wang DY, Qin RY, Liu ZR, et al. Expression of TREM-1 mRNA in acute pancreatitis. *World J.Gastroenterol.* 2004; 10(18)2744-2746.
69. Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, et al. Increased levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in patients with acute pancreatitis. *Crit Care Med.* 2008;36(7)2048-2053.
70. dib-Conquy M, Monchi M, Goulenok C, et al. Increased plasma levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 and procalcitonin after cardiac surgery and cardiac arrest without infection. *Shock* 2007;28(4)406-410.
71. Radsak MP, Taube C, Haselmayer P, et al. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 is released in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Clin.Dev.Immunol.* 2007;200752040.
72. Kylanpaa-Back ML, Takala A, Kemppainen E, et al. Cellular markers of systemic inflammation and immune suppression in patients with organ failure due to severe acute pancreatitis. *Scand.J.Gastroenterol.* 2001;36(10)1100-1107.

73. Satoh A, Miura T, Satoh K, et al. Human leukocyte antigen-DR expression on peripheral monocytes as a predictive marker of sepsis during acute pancreatitis. *Pancreas* 2002;25(3)245-250.
74. Ho YP, Sheen IS, Chiu CT, et al. A strong association between down-regulation of HLA-DR expression and the late mortality in patients with severe acute pancreatitis. *Am.J.Gastroenterol.* 2006;101 (5)1117-1124.
75. Mentula P, Kylanpaa ML, Kemppainen E, et al. Plasma anti-inflammatory cytokines and monocyte human leucocyte antigen-DR expression in patients with acute pancreatitis. *Scand.J.Gastroenterol.* 2004;39(2)178-187.
76. Xing Z, Gauldie J, Cox G, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J.Clin.Invest* 1998;101(2)311-320.