



**Universidad Nacional Autónoma de México**



---

---

**THE AMERICAN BRITISH COWDRAY  
MEDICAL CENTER I.A.P.**

**TITULO**

**Asociación de los niveles de la proteína HMGB-1 con la gravedad  
de la pancreatitis aguda, estudio multicéntrico.**

**TESIS DE POSGRADO  
PARA OBTENER EL TITULO DE:  
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA**

**DR. JONATHAN MANUEL AGUIRRE VALADEZ**

**ASESOR DE TESIS:  
DR. MARIO C. PÉLAEZ LUNA**

México, D. F. Agosto del 2011





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

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

THE AMERICAN BRITISH COWDRAY MEDICAL CENTER I.A.P.

CÁTEDRA DE MEDICINA INTERNA



**Asociación de los niveles de la proteína HMGB-1 con la gravedad de la pancreatitis aguda, estudio multicéntrico.**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE:

**ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

PRESENTA

**DR. JONATHAN MANUEL AGUIRRE VALADEZ**

ASESOR DE TESIS: DR. MARIO C. PELÁEZ LUNA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO: DR. FRANCISCO MORENO SANCHEZ

# **Asociación de los niveles de la proteína HMGB-1 con la gravedad de la pancreatitis aguda, estudio multicéntrico.**

---

Dr. Mario C. Peláez Luna  
Asesor de Tesis  
Gastroenterología Médica / Medicina Interna  
Centro Médico ABC

---

Dr. Francisco Moreno Sánchez  
Jefe del curso de Medicina Interna  
Infectología  
Centro Médico ABC

---

Dr. José Halabe Cherem  
Jefe de la División de Enseñanza e Investigación  
Medicina Interna  
Centro Médico ABC

## ÍNDICE

Firmas.....	3
Índice.....	4
Marcoteórico.....	5
Generalidades de la proteína HMGB1.....	6
Modelos animales de pancreatitis y HMGB1.....	8
Estudios en humanos de pancreatitis y HMGB1.....	9
Justificación.....	10
Hipótesis.....	10
Objetivos.....	10
Material y Métodos.....	11
Resultados.....	15
Discusión.....	19
Conclusiones.....	20
Bibliografía.....	21

## MARCO TEÓRICO

La pancreatitis aguda (PA) es definida como un proceso inflamatorio del páncreas con afección variable de otros tejidos vecinos u órganos a distancia, afecta aproximadamente a 40 de cada 100 000 habitantes de la población general, con mortalidad que varía de menos del 1% en casos leves hasta el 30% en graves. A pesar de que existen varias causas, las más comunes son la litiasis biliar y el alcoholismo, dos entidades que afectan a gran parte de la población general. La PA se caracteriza por dolor abdominal y elevación de las enzimas pancreáticas (amilasa y lipasa) en sangre periférica y orina. En general la PA tiene un curso leve (80% de los casos) pero 20% de los casos pueden presentar las siguientes complicaciones que de acuerdo con la clasificación hecha en el simposium de Atlanta<sup>i</sup> la definen como grave: a) complicaciones locales: necrosis que se asocia a mortalidad del 10% cuando es estéril y del 25% cuando está infectada, además puede presentarse a nivel local hemorragia, pseudoquistes o abscesos; b) complicaciones sistémicas: insuficiencias renal, respiratoria, cardiaca, hemorragia de tubo digestivo mayor de 500 ml, falla orgánica múltiple (FOM) y sepsis.<sup>i</sup>

Independientemente de la causa, la PA resulta de una cascada de eventos que inician en la activación de enzimas proteolíticas dentro de la célula acinar con el daño tisular subsecuente caracterizado por edema (leve) o necrosis (grave), esto lleva al reclutamiento de células inflamatorias hacia el páncreas y a la generación de una respuesta inflamatoria local de magnitud variable, con liberación de mediadores de inflamación como citocinas, quimiocinas, especies reactivas de oxígeno y otras proteínas de fase aguda. La mayor parte de las veces esta inflamación es localizada, autolimitada y sigue un curso clínico leve. Sin embargo, por razones no bien conocidas puede convertirse en un evento generalizado que se conoce como Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS).

Es más, el tejido pancreático necrótico puede infectarse probablemente por la translocación bacteriana y por las intervenciones médicas menores, y con ello dar inicio a una segunda respuesta inflamatoria que puede ser disparada a través del reconocimiento del lipopolisacárido bacteriano, la translocación de NF-κB al núcleo y la transcripción de moléculas de adhesión, citocinas proinflamatorias, proteínas de fase aguda, e incluso podría liberarse HMGB1 (por sus siglas en inglés: High-Mobility Group Box), recientemente reconocida como un marcador de necrosis tisular.<sup>iiii</sup>

La mortalidad observada en la PA grave durante la primer semana de evolución suele ser secundaria a complicaciones de respuesta inflamatoria sistémica, falla orgánica única o múltiple que persiste más de dos días; por otro lado la mortalidad tardía (después de la primer o segunda semana de evolución) se debe generalmente al desarrollo de sepsis relacionada con la magnitud de la necrosis pancreática y de tejidos vecinos, que constituyen un medio susceptible de infectarse (30-70%) y condicionar la persistencia o aparición de FOM.<sup>iiii</sup>

La elevada mortalidad a la que se asocian, hace importante identificar tempranamente aquellos casos que seguirán un curso grave y se beneficiarán del manejo en la Unidad de Cuidados Intensivos con medidas preventivas del desarrollo de complicaciones, sin embargo esto aún es difícil debido a que en este momento no se cuenta con el método ideal que permita identificar con exactitud a dichos pacientes. Se han propuesto diversos criterios pronósticos que tienen utilidad, costo, disponibilidad y complejidad variables, por lo que no se ha establecido alguno en forma definitiva y continúa la búsqueda de mejores métodos para identificar con oportunidad a los enfermos graves.

Desde hace casi 30 años se han usado los criterios pronósticos de Ranson que incluyen índices clínicos y bioquímicos identificados al ingreso y a las 48 horas de evolución de la PA. Un puntaje de tres o más en esta escala se asocia a una mortalidad de aproximadamente 62% la cual se eleva de forma directamente proporcional con el puntaje obtenido.

Recientemente se ha evaluado la gravedad utilizando escalas como APACHE II (Acute Physiologic Assessment and Chronic Health Evaluation) logrando identificar PA grave cuando se obtiene una puntuación de ocho o más <sup>iv</sup>; la limitación de estas escalas radica en la imposibilidad (en algunos centros hospitalarios) de contar con todas las variables o mediciones necesarias para completar los puntajes, o bien la espera de tiempo para poder completar la valoración. Además de estos puntajes se han estudiado moléculas aisladas como proteína C reactiva, procalcitonina, interleucinas, sin resultados satisfactorios.

### **Proteína HMGB1**

La proteína HMGB1 conocida también como anfoterina, fue identificada en los años 70's en el citoplasma y núcleo asociada con la cromatina, aunque es producida por casi todas las células su localización nuclear puede variar en las etapas del desarrollo o con la edad. A través de la evolución es una proteína altamente conservada en diferentes especies (98% de las secuencias son idénticas entre especies de roedores con humanos), está compuesta por 215 residuos de

aminoácidos, con un peso molecular de 30 kDa. Estructuralmente está formada por tres dominios, dos de ellos unidos a la doble cadena de DNA identificados como boxA y boxB y el carboxilo terminal con cargas negativas (Fig. 1).<sup>v,vi</sup>

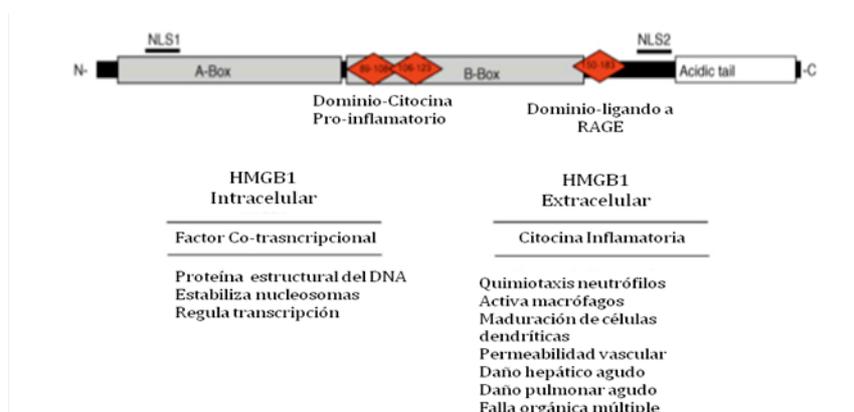


Fig. 1. Tomado y modificado de Ulloa L. y Messmer D.<sup>vi</sup> Características estructurales de la proteína HMGB1.

En la actualidad se conoce que es una proteína con un papel dual, ya que por un lado HMGB1 es una proteína nuclear (no-histona) unida al DNA que funciona como un cofactor crucial facilitando la regulación transcripcional de genes en las células somáticas,<sup>v,vi</sup> y por otro lado se comporta como una citocina que para llevar a cabo esta función es necesario su translocación del núcleo hacia el medio extracelular, actuando como un marcador de necrosis para el sistema inmune.<sup>vi</sup>

Estudios recientes han demostrado que las células dañadas por necrosis liberan HMGB1, mientras que las células que sufren apoptosis retienen esta proteína en su interior.<sup>vii; viii</sup> Además puede haber secreción activa por monocitos y macrófagos aproximadamente 20 horas después de una señal inflamatoria.

Se describen dos mecanismos de liberación, uno de ellos pasivo, donde la HMGB1 biológicamente activa difunde fuera de la célula dañada por necrosis y da una señal de quimiotaxis de activación de inflamación mediadas por células inmunes como neutrófilos, monocitos y macrófagos. Este proceso es crítico para la resolución del daño. Los niveles en exceso de esta proteína alteran las funciones de la barrera endotelial que llevan a la fuga vascular y a la hipoperfusión tisular. Además la HMGB1 puede alterar la permeabilidad y función de la barrera intestinal en ratones, aumentar la translocación bacteriana facilitando la diseminación sistémica de una infección. El otro mecanismo es un proceso activo que se efectúa en las células inmunes, ocurre después de que la HMGB1 ha sido hiper-acetilada en el núcleo,

provocando la salida de esta proteína hacia las vesículas secretoras (lisosoma) localizadas en el citoplasma para ser exocitadas. La HMGB1 extracelular excesiva puede disparar una respuesta inflamatoria descontrolada y contribuir en la progresión patológica de la infección (fig. 2). Pero esto depende de la concentración ya que igual que otras citocinas proinflamatorias, cantidades moderadas de HMGB1 puede inducir un beneficio en la respuesta inmune para disminuir la infección o daño ocasionado por la inflamación o bien pueden promover la regeneración.<sup>vi, ix</sup>

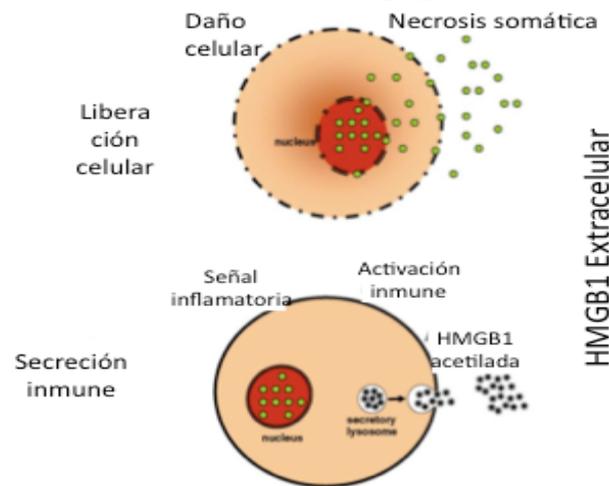


Fig. 2. Tomado y modificado de Ulloa L. y Messmer D.<sup>vi</sup> "Liberación pasiva" de la proteína HMGB1 de células que han muerto por necrosis, en comparación con la "liberación activa", a partir de células inmunes activadas, a través de la hiper-acetilación de isoformas de HMGB1 .

En el suero de pacientes con sepsis se han identificado niveles de HMGB1 significativamente elevados en los casos de mal pronóstico, su liberación en sangre periférica se presenta días después de la exposición a endotoxinas por lo que se ha considerado un mediador tardío de letalidad. Por otra parte la inyección de HMGB1 recombinante en ratones produce signos clínicos de sepsis y FOM. También se ha asociado la elevación extracelular de la proteína HMGB1 con la patogénesis de enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide y lupus eritematoso generalizado ) e infecciones principalmente virales (hepatitis B).<sup>ix</sup>

### HMGB1 y pancreatitis aguda en modelos animales

Se ha demostrado la asociación de HMGB1 y PA grave. Zhang ZW y cols. demostraron un incremento significativo de los niveles de la proteína HMGB1 en el tejido pancreático de ratas con PA grave, a las 12 y 24 horas de iniciado el cuadro. Estos niveles se mantuvieron permanentemente elevados hasta las 48 horas en comparación con un grupo control (sin

pancreatitis); interesantemente en un tercer grupo de ratas, a las que se indujo pancreatitis grave y que se les trató previamente con ditiocarbamato de pirrolidona (un potente antioxidante) se observó reducción del daño histológico pancreático, menor presencia histológica de HMGB1, menor actividad del factor nuclear  $\kappa\beta$  y menor presencia de TNF- $\alpha$ .<sup>xiii</sup>

En otro estudio realizado con ratones a los que se indujo PA grave demostró que al administrarle a los ratones anticuerpos anti-HMGB1, estos presentaban una disminución significativa en el daño tisular pancreático y pulmonar, así como disminución de los niveles séricos de amilasa, alanino aminotransferasa y creatinina con respecto a los controles.<sup>xiv</sup>

### **Asociación HMGB1 y pancreatitis aguda en humanos**

En pacientes con pancreatitis grave se han encontrado valores elevados de la proteína HMGB1 sérica dentro de las primeras 72 hrs de haber comenzado el cuadro en comparación con voluntarios sanos, determinándose los valores más elevados entre las 48-72 hrs, en el mismo estudio no se encontró asociación entre los niveles y el desarrollo de necrosis pancreática, la escala de Ranson o APACHE, sin embargo existió correlación con otras escalas de gravedad (Glasgow y JSS), niveles de proteína C reactiva, además se observó una tendencia en la asociación de los niveles de HMGB1 sérica y la presencia de falla orgánica, infección y el pronóstico (elevada en no sobrevivientes en comparación con sobrevivientes).<sup>x</sup>

Estudios recientes han reportado hallazgos controversiales. Lindström O, y cols.<sup>xi</sup> analizaron la relación entre los niveles séricos de HMGB1, los receptores solubles de productos finales de glucosilación (sRAGE), con el desarrollo de PA grave y falla orgánica en comparación con pacientes con PA grave sin falla orgánica. Encontraron que los niveles séricos de sRAGE elevados se asociaban al desarrollo de falla orgánica múltiple, no así los niveles de HMGB1; contrario a estos hallazgos, Kocsis AK y cols.<sup>xii</sup> encontraron una diferencia significativa entre los niveles séricos de HMGB1 y la gravedad de la pancreatitis.

Estos reportes sugieren que HMGB1 puede actuar como molécula mediadora de la respuesta inflamatoria y de daño a órganos secundario a pancreatitis, principalmente cuando se trata de episodios graves, y sugieren un potencial uso como marcador temprano de gravedad.

## JUSTIFICACIÓN

Existe evidencia controversial en relación a la asociación de los niveles séricos de la proteína HMGB1 con la presencia de pancreatitis aguda grave <sup>x;xi;xii</sup>. Aunque en 2 reportes se encontró asociación significativa con los niveles séricos de la proteína y la gravedad de pancreatitis, uno de ellos comparó los niveles séricos de enfermos contra los niveles séricos de sujetos sanos. <sup>x</sup> Por otra parte, de estos 2 estudios solo uno <sup>xii</sup> determinó los niveles a lo largo de la evolución y la asociación con gravedad comparado con aquellos con un cuadro leve, la cual fue significativa. En otro estudio similar <sup>xii</sup>, no se encontró relación alguna entre los niveles de HMGB1 a lo largo de la evolución del cuadro y la gravedad del mismo.

Ante estos resultados contradictorios, decidimos estudiar y determinar la asociación de HMGB1 con la gravedad de la PA. En una investigación previa encontramos aunque sin significancia estadística, que los pacientes con PA grave presentaban una tendencia a tener concentraciones séricas de HMGB1 (determinadas por ELISA y a lo largo de la evolución hasta 48 hrs) más altas que los pacientes con cuadros leves a las 48 horas de evolución <sup>xix</sup>.

Considerando que el HMGB1 se comporta como una molécula mediadora de inflamación tardía decidimos realizar mediciones a las 72 hrs de evolución del cuadro de PA esperando encontrar mayores diferencias entre los cuadros graves y leves.

## HIPÓTESIS

La proteína HMGB1 en el suero:

- Se encuentra elevada en pacientes con PA que desarrollarán gravedad.
- Se eleva de forma progresiva durante las primeras 72hrs de inicio del cuadro en los pacientes que desarrollarán pancreatitis grave en comparación con pancreatitis leve.
- Se encuentra elevada en pacientes que fallecerán en comparación con los que sobreviven.

## \*OBJETIVOS GENERALES

Investigar la relación de los niveles séricos de la proteína HMGB1 con el desarrollo de PA grave, en pacientes de diferentes hospitales de la ciudad de México.

## **\*OBJETIVOS PARTICULARES**

Relacionar la HMGB1 sérica a diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 horas ) con mayor gravedad (morbilidad y mortalidad) en PA.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **\*Criterios de selección**

Inclusión:

Diagnóstico de PA de menos de 48 horas de evolución

Aceptar participar en el protocolo

Exclusión:

Tener una condición clínica causante de inmunodeficiencia (p.Ej. HIV, quimioterapia)

Laparotomía 72 horas antes o durante la PA

No dar el consentimiento para participar en el estudio

Eliminación:

Desear salirse del estudio

No contar con los datos clínicos completos para el análisis

Muestras de sangre con problemas técnicos para su procesamiento

### **Diagnóstico de PA**

Se realizará con base a la presencia simultánea de dos o más de los siguientes: 1) cuadro clínico compatible 2) elevación sérica de amilasa y/o lipasa (al menos 3 veces arriba de lo normal) y/o 3) hallazgos sugerentes de PA en los estudios de imagen. <sup>v</sup>

### **Definición de gravedad**

La gravedad se establecerá utilizando uno o más de las siguientes escalas Ranson, APACHE II y/o Atlanta <sup>i</sup>,

*1. Criterios pronósticos de gravedad:*

Puntaje en Escala de Ranson  $\geq$  3 puntos y/o APACHE > 8 puntos

*Escala de Atlanta*

*Se utilizará para identificar complicaciones locales y sistémicas. La presencia de una o más de estas definirá gravedad.*

*A. Complicaciones locales:*

- a) Necrosis: áreas difusas o locales de parénquima pancreático no viable (sin perfusión),
- b) Necrosis infectada: presencia bacterias y/o cultivos microbiológicos positivos en muestras de de necrosis pancreática obtenidas mediante biopsia por aspiración y/o cirugía,
- c) Absceso: colección intraabdominal de pus, delimitada y usualmente próxima al páncreas pudiendo o no contener tejido pancreático necrótico,
- d) Pseudoquiste: Colección de jugo pancreático, encapsulado por una pared de tejido fibroso o de granulación que suele ocurrir usualmente 4 semanas después del inicio del cuadro de PA.

*B. Complicaciones Sistémicas:*

- a) Falla renal: creatinina  $\geq 2$  mg/dl,
- b) Falla respiratoria:  $paO_2 \leq 60$  mmHg,
- c) Falla cardiovascular o Choque: Presión arterial sistólica  $\leq 90$  mmHg;
- d) Coagulopatía: plaquetas  $\leq 100,000$  ml fibrinógeno  $\leq 1$  g/lit, productos degradación de fibrinógeno  $\geq 80$  ng/lit,
- e) Sangrado gastrointestinal: pérdida de  $\geq 500$  ml/día,
- f) Falla orgánica múltiple (FOM): presencia simultánea de más de una falla orgánica.

La presencia de necrosis se establecerá mediante tomografía axial computada dinámica con medio de contraste o por evidencia quirúrgica.

La presencia de infección se establecerá por cultivos positivos de aspirado percutáneo o drenaje quirúrgico del tejido necrótico y por la evidencia de sepsis. <sup>xvi</sup>

**\*Recolección de las muestras.**

Se tomarán muestras de sangre de 5 ml en tubos Vacutainer® con y sin anticoagulante por punción de vena periférica (brazo), cuando no se cuente con catéter central. Las tomas se harán al ingreso al hospital (tiempo cero) y después a las 24 y 72 h, de hospitalización. Se centrifugarán a 2500 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se extraerá el suero y se

harán alícuotas (250µL) de cada muestra de suero que se almacenarán a -70°C, hasta el momento de la determinación de HMGB1.

### **\*Pacientes**

Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal, comparativo de pacientes con diagnóstico de PA del Hospital General de México, Hospital de Especialidades Siglo XXI y Centro Médico ABC I.A.P. El tratamiento y manejo de los enfermos se hará de acuerdo a las normas de cada uno los servicios de hospitalización de cada sede sin considerar los objetivos de esta investigación.

Dados los trabajos publicados y los hallazgos encontrados, proponemos estudiar una población de 50 pacientes con pancreatitis aguda. x ; xi ; xii

### **\* Determinación de HMGB1**

Se realizará la determinación de la proteína HMGB1 de acuerdo al protocolo del kit comercial HMGB1 ELISA kit II, (Shino Test, Japón). Se agregaran 100µL del diluyente muestra (buffer con aditivos y preservativos) a cada pozo mas 10µL de cada muestra, después se cubrirá la placa, se agitará por 3-5 minutos y se dejara incubar por 20-24 hrs. a 37°C. Pasada la incubación se realizarán 5 lavados con la solución de lavado, seguidos de la adición de 100µL del anticuerpo monoclonal asociado a peroxidada de anti-HMGB1, se cubrirán los pozos y se dejara incubar por 2 hrs. a 25°C, después se realizará un segundo juego de 5 lavados y se agregara 100µL de la solución de sustrato que esta compuesta por el Reactante de color A ( 3, 3', 5, 5' tetrametilbenzidina) y el Reactante de color de B (buffer con 0.005 mol/L de peroxido de hidrogeno), se cubrirá nuevamente y se dejara incubar por 30 minutos, después de la incubación se agregaran 100µL de la solución de alto (0.35 mol/L de acido sulfúrico) y dentro de los siguientes 60 minutos se leerá la absorbancia de cada pozo a 450 nm usando un lector de microplacas (Multiskan Ascent 354, Thermo Electron Corporation, Shanghai, China), a los resultados se les restará el valor de absorbancia de cero y los valores de las muestras que resultaron mayores a los de la curva control serán diluidos para que estos se mantengan dentro de la curva.

### **\*Análisis estadístico**

Toda la información se recolectará en formatos previamente diseñados, los cuales se anotarán en una base de datos electrónica diseñada específicamente para este estudio, en el paquete estadístico SPSS v.11.0. Se reportarán medidas de tendencia central y de dispersión para cada variable acorde al tipo de la misma. Así como se realizarán pruebas de homogeneidad entre grupos acorde al desenlace y al factor de exposición, respecto a la distribución de la edad

(Estadístico de Levene y t de Student), sexo y co-morbilidad (Ji cuadrado), considerando homogéneos los grupos con valores de  $p > 0.05$ .

Respecto a los valores promedio de HMGB1 obtenidos en el grupo de graves con respecto a los leves (*controles*), se utilizará estadística de contraste, en caso de cumplir con la homogeneidad de varianzas se aplicará t de Student, en caso de no cumplir se aplicará U de Mann-Whitney. Considerándose con significancia estadística los valores de  $p \leq 0.05$ , con intervalo de confianza al 95%.

## RESULTADOS

Se incluyeron 24 pacientes (14 hombres; 60%) con diagnóstico de pancreatitis aguda. La media de edad fue de 46.6 años (intervalo; 25-78) (Tabla 1).

Se obtuvieron muestras de sangre a diferentes tiempos a partir del comienzo del cuadro agudo (0, 24 hrs, 48 hrs y 72 hrs. De acuerdo a los criterios de, Ranson, APACHE o Atlanta, 15 (62.5%) casos fueron leves y 9 (37.5%) graves. La distribución etiológica fue biliar en 6 (25%), alcohólica en 6 (25%), idiopática en 8 (33%), el resto se muestra en la Figura 3. Dos casos (8.3%), de PA grave fallecieron (Tabla 1; Fig. 3).

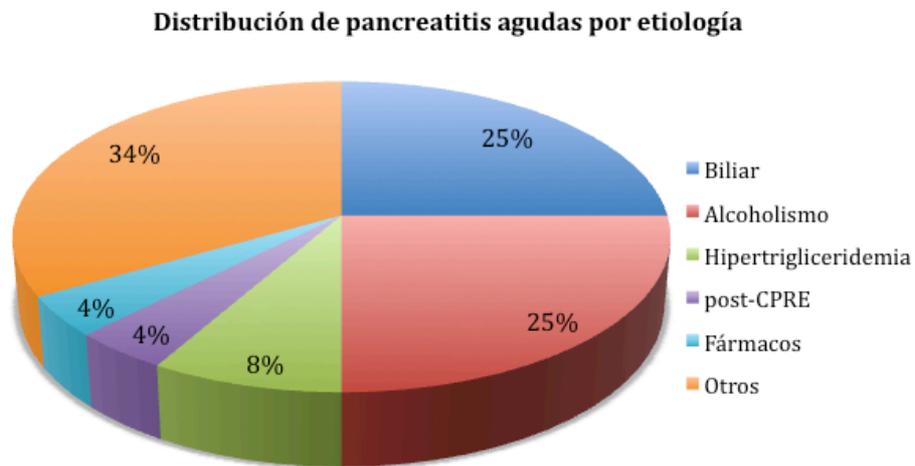


Fig. 3. Distribución en porcentajes de las diferentes etiologías de pancreatitis aguda

Tabla 1. Características de los pacientes incluidos en el estudio

	Pancreatitis leve (n:15; 62.5%)	Pancreatitis grave (n:9;37.5%)
<b>*Edad , desv est, años</b>	43.4 ± 12.9 (25-75)	51.8 ± 18.9 (28-78)
<b>Hombre%</b>	46%	78%
<b>Mujer %</b>	54%	22%
<b>Etiología,%:</b>		
<b>Biliar</b>	20%	33.3%
<b>Acohol</b>	20%	22.2%
<b>Triglicéridos</b>	7%	11.1%
<b>Medicamentos</b>	7%	0%
<b>Post-CPRE</b>	7%	0%
<b>Otra</b>	40%	33.3%
<b>*APACHE II</b>	4 (2-7)	11(2-22)
<b>*HB, g/dL</b>	15.21 (12-17)	13.7 (11.3-19.8)
<b>* Hto%</b>	41.63 (16-51)	42.4 (35.9-61.1)
<b>*Leucocitos cel/μL</b>	12.98 (6.4-22.5)	15.3 (9.7-20.5)
<b>* Creatinina, mg/dL</b>	0.85 ( 0.4-1.2)	1.57 (0.51-5.8)
<b>* Amilasa UI/L</b>	716.5 (185-1810)	973.3 (123-2359)
<b>*Lipasa UI/dL</b>	726 (1891-111)	1171.2 (194-5446)
<b>Complicación,%:</b>		
<b>Necrosis</b>	0	25%
<b>Absceso</b>	0	0%
<b>Pseudoquiste</b>	0	25%
<b>Com Resp</b>	0	37.5%
<b>Com Renal</b>	0	22.2%
<b>Com Cardiov</b>	0	0%
<b>Com STD</b>	0	0%
<b>Com Coag</b>	0	0%
<b>Sepsis</b>	0	25%
<b>FOM</b>	0	12.5%
<b>Muerte</b>	0%	22%

\* Media, (Intervalo). HB= hemoglobina, Hto: hematocrito, Com=complicación, STD =complicaciones de sangrado de tubo digestivo; FOM= falla orgánica múltiple

Tabla 2. Niveles séricos de la proteína HMGB1 y los diferentes grados de pancreatitis

Tipo de pancreatitis	Tiempos y determinaciones de la proteína HMGB1			
	0 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs
<b>Pancreatitis leve</b>	19.83±10.5 * (n=10)	18.84 ±16.* (n=11)	15±5.9* (n=9)	13.82±7.7* (n=8)
<b>Pancreatitis grave</b>	16.7±9.26* (n=8)	16.94±8.3* (n=7)	14.9±11.1* (n=6)	27.5±28.2* (n=6)
<b>Pancreatitis + Mortalidad</b>	15.56 (n=1)	12.2±5.9 (n=2)	ND	48.34

, Valores expresados en ng/dL, medias y desviaciones estándar, \* p>0.05

## Niveles de proteína HMGB1

Los pacientes con PA grave mostraron concentraciones séricas mayores de HMGB1 a las 72 horas comparados con los pacientes con un episodio leve, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $27.5 \pm 28.2$  ng/dL vs PA leve  $13.8 \pm 7.7$  ng/dL  $p=0.29$ ) (Fig. 4; Fig. 5; Tabla 2).

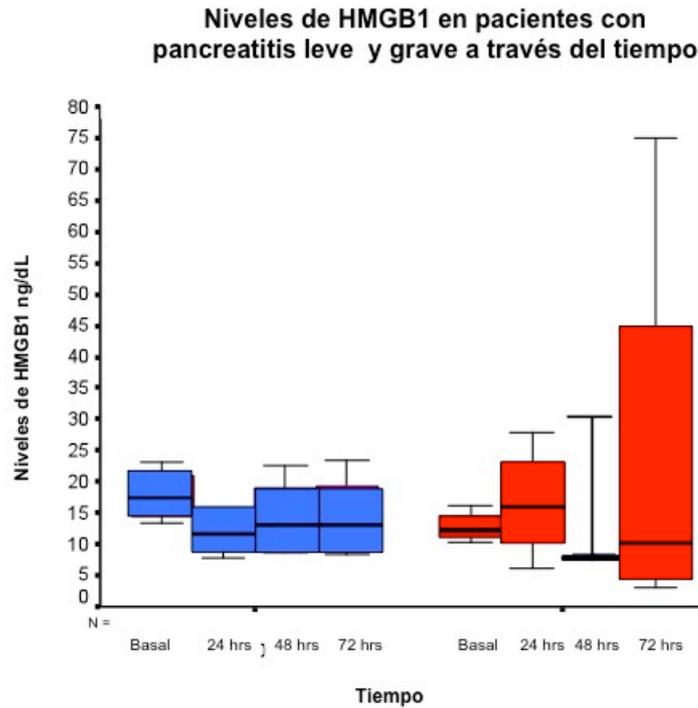


Fig. 4. Comparación de los niveles séricos de la proteína HMGB1 determinada por ELISA, en diferentes tiempos (0, 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs), en pacientes con pancreatitis aguda leve (cajas azules) y pancreatitis aguda grave (cajas rojas). Las cajas demarcan de la percentila 25 a la 75, las líneas negras de los extremos son los rangos, la línea horizontal de la caja es la Mediana.

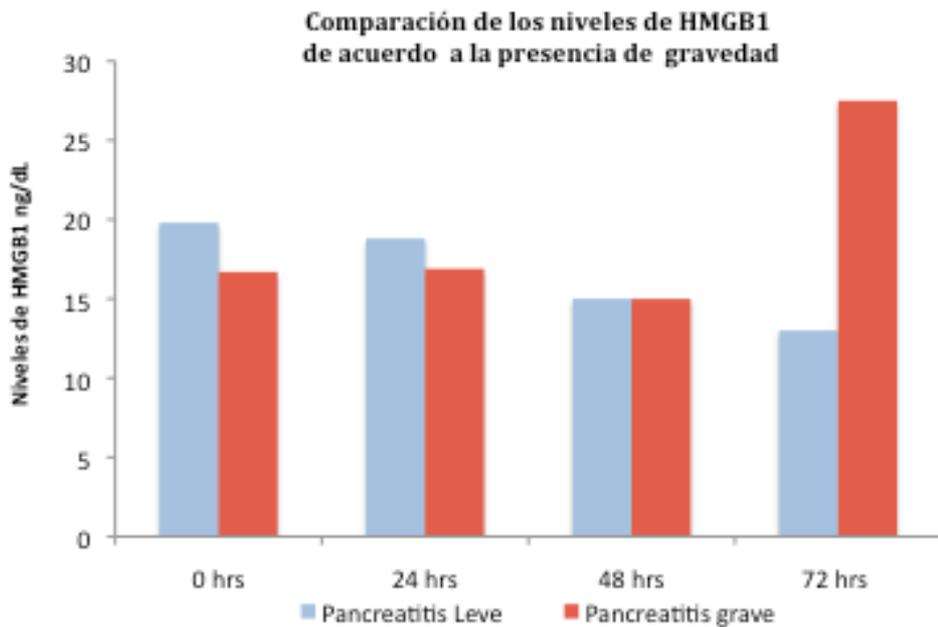


Fig. 5. Comparación de los niveles séricos de la proteína HMGB1, en diferentes tiempos (0, 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs y 7 días), en pacientes con pancreatitis aguda leve y pancreatitis aguda grave.

En cuanto a los pacientes que fallecieron, existió mayor concentración sérica de la proteína HMGB1, sin llegar a ser significativa, a partir de las 72 hrs. comparado con los pacientes que sobrevivieron (PA vivos  $12 \pm 12.7$  ng/dL vs. PA muertos 48.3 ng/dL;  $p > 0.05$ ) ( Fig. 6).

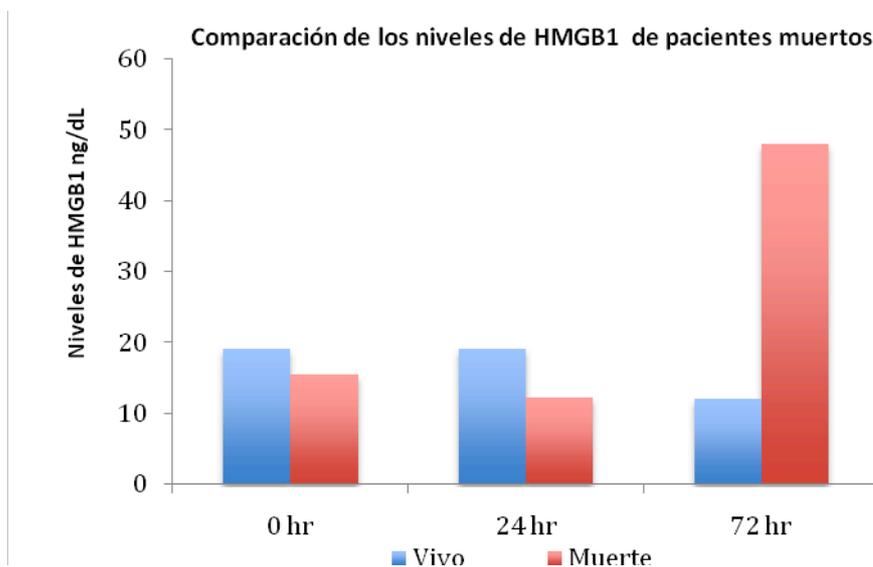


Fig. 6. Comparación de los niveles séricos de la proteína HMGB1, en diferentes tiempos (0, 24 hrs, 72 hrs y 7 días), en pacientes con pancreatitis aguda que su desenlace fue la muerte y aquellos que no.

## DISCUSIÓN

Aproximadamente 10-25% de todos los pacientes con pancreatitis aguda desarrollan un episodio grave, asociado a una mortalidad de hasta el 50% . La capacidad de predecir la gravedad puede ayudar a identificar pacientes que se encuentran en un riesgo mayor de morbilidad y mortalidad; la gravedad puede establecerse con base en parámetros clínicos, bioquímicos, marcadores serológicos, riesgo calculado a través de estudios de imagen y algunos sistemas de puntaje de gravedad. Comúnmente se realizan sistemas de puntaje (Ranson, APACHE, Atlanta, Tomográficos) que para ser llevados a cabo, requieren la realización de una serie de parámetros (clínicos, bioquímicos y en algunos casos de imagen) que en conjunto nos ayudan a definir el pronóstico y gravedad de la PA, existen también algunos parámetros que de forma aislada han tenido cierto impacto en dicha clasificación y pronóstico (edad >65 años, obesidad, hemoconcentración, niveles de creatinina, proteína C reactiva y procalcitonina).<sup>xx</sup> Algunos de ellos pueden ser realizados al momento del ingreso, mientras que otros sólo pueden ser completados u obtenidos hasta las 48 a 72 horas después del ingreso. El predictor ideal debe tener las siguientes características, obtenerse rápidamente, ser fácilmente reproducible, tener bajo costo, ser mínimamente invasivo , poseer gran especificidad y sensibilidad en predecir pacientes en bajo o alto riesgo.

Hasta el momento ninguna de las herramientas disponibles en la actualidad cumple con todos estos criterios, por lo que aún es necesario encontrar uno o más marcadores que permitan identificar de forma oportuna aquellos enfermos graves que se beneficiarían de algún otro tipo de manejo y tratamientos intensivos.

La proteína HMGB1, es en parte una proteína proinflamatoria de acción tardía, que comienza su liberación a partir de las 20 horas del comienzo del proceso inflamatorio, se asocia con gravedad de diversas enfermedades (daño pulmonar agudo, sepsis, infecciones adquiridas en la comunidad, bacteremias, reumatológicas y pancreáticas)<sup>xvii ;xviii</sup> además de ser un marcador de necrosis tisular<sup>vi ; ix</sup> aunque para algunas condiciones inflamatorias no se ha logrado establecer dicha asociación.<sup>xv</sup>

En diversos contextos clínicos y experimentales se ha demostrado que la elevación de la proteína HMGB1 confiere un mal pronóstico con respecto a la morbilidad y mortalidad: El incremento de la concentración sérica de la proteína es resultado del daño tisular mediado por inflamación, pero a su vez responsable de la exacerbación y mantenimiento de la respuesta inflamatoria sistémica<sup>vi</sup> ; incluso en modelos experimentales de pancreatitis aguda grave se ha

logrado disminuir el daño a nivel tisular y disfunción orgánica cuando se hace uso de antioxidantes y anticuerpos dirigidos contra HMGB1, lo que apoya el rol de la proteína como clave mediadora de la respuesta inflamatoria en pancreatitis aguda grave. <sup>xiii; xiv</sup>

En nuestro estudio aún y cuando no se encontraron diferencias significativamente estadísticas en las concentraciones séricas de HMGB1 entre los casos de pancreatitis leve y grave, los niveles séricos de la proteína fueron mayores a las 72 hrs en estos últimos, siendo en este contexto un probable mediador de la respuesta inflamatoria sistémica tardía, además de un marcador de daño a nivel tisular del páncreas y otros tejidos. En el caso de PA en modelos de ratones se han realizado estudios donde se bloquea la acción de la proteína HMGB1, obteniéndose resultados de disminución de daño a órganos, entre ellos el páncreas; aunque aumento en la translocación bacteriana al tejido pancreático. <sup>xiii</sup>

Esta falta de significancia estadística puede explicarse por el número reducido de pacientes estudiados hasta ahora, lo cual también explica la distribución etiológica de la PA; sin embargo estos resultados confirman y sugieren que la proteína HMGB1 se comporta como citocina proinflamatoria de acción tardía. Lamentablemente, aunque nuestros resultados sugieren un potencial papel como identificador de gravedad este parece iniciar a partir de las 72 hrs de iniciado el cuadro. Sin embargo, es necesario incrementar la muestra para evaluar su verdadera utilidad y precisión diagnóstica como factor pronóstico temprano de gravedad.

## **CONCLUSIONES**

Los pacientes con PA grave muestran una tendencia a presentar mayores concentraciones séricas de la proteína HMGB1 en comparación con aquellos con PA leve a las 72hr de iniciado el cuadro. Es necesario incrementar la muestra de estudio para poder obtener resultados confiables y elaborar conclusiones más precisas.

## REFERENCIAS

- <sup>i</sup> Bradley EL 3<sup>rd</sup>. 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;128:586-90. Review
- <sup>ii</sup> Mantell L.L., Parrish W.R. y Ulluo L., (2006), HMGB1 as a therapeutic target for infectious and inflammatory disorders, Shock, 25: 4-11.
- <sup>iii</sup> Isenmann R, Beger HG. Natural history of acute pancreatitis and the role of infection. Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol 1999; 13:291-301.
- <sup>iv</sup> Robles-Díaz G. Pancreatitis aguda. En: Narro Robles J, Rivero Serrano O, López Bárcena JJ. Diagnóstico y tratamiento en la práctica médica. Ed. El Manual Moderno S. A. De C. V. México, D. F. 2006: 495-499
- <sup>v</sup> Li J., Kokkola R., Tabibzadeh S., Yang R., Ochani M., Qiang X., Harris H.E., Czura Ch.J., Wang H., Ulloa L., Wang H., Warren H.S., Moldawer L.L., Fink M.P., Andersson U., Tracey K.J. y Yang H., Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1, Mol. Med., 2003; 17: 37-45
- <sup>vi</sup> Ulloa L. y Messmer D., , High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: Friend and foe, Cytokine & Growth Factor Reviews, 2006;17: 189-201
- <sup>vii</sup> Lotze M.T. y Tracey K.J. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): Nuclear weapon in the immune arsenal, Nat. Rev. Immunol. 2005; 5: 331-342.
- <sup>viii</sup> Sun N.K., y Chao Ch.C.K.. The cytokine activity of HMGB1 extracellular escape of the nuclear protein. Chang Gung Med. J. 2005; 28: 673-682
- <sup>ix</sup> Klune JR, Dhupar R, Cardinal J, Billiar TR y Tsung Allan. HMGB1: Endogenous Danger Signaling. Mol Med. 2008;14:476-484
- <sup>x</sup> Yasuda T, et al. Significant Increase of Serum High-Mobility Group Box Chromosomal Protein 1 Levels in patients with severe Acute pancreatitis. Pancreas 2006
- <sup>xi</sup> Lindström O, et al. Circulating levels of a Soluble Form of Receptor for Advanced Glycation End Products and High-Mobility Group Box Chromosomal Protein 1 in patients With Acute Pancreatitis. Pancreas, 2009;3
- <sup>xii</sup> Kocsis AK, et al. Plasma concentration of high mobility Group box 1 protein, soluble receptor for advanced glycation end products and circulating DNA in patients with acute pancreatitis. Pancreatology, 2009; 9
- <sup>xiii</sup> Zhang ZW, Zhang QY, Zhou MT, Liu NX, Chen TK, Zhu YF y Wu L. Antioxidant Inhibit HMGB1 expression and Reduce Pancreas Injury in Rats with Severe Acute Pancreatitis. Dig Dis Sci, 2010, 55
- <sup>xiv</sup> Sawa H, Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzaki M, Nakajima T y Kuroda Y. Blockade of High mobility Group Box-1 attenuates experimental severe acute pancreatitis. World J Gastroenterol. 2006;12
- <sup>xv</sup> Gaïni Sh, Koldkjaer OG, Moller HJ, Pedersen C y Pedersen SS. A comparison of high – mobility group – box 1 protein, lipopolysaccharide- binding protein and procalcitonin in severe community acquired infections and bacteremia: a prospective study. Crit Care. 2007;11.

<sup>xvi</sup> Levy MM, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med. 2003;31

<sup>xvii</sup> Pisetsky DS, Erlandsson- Harris H y Andersson U. High mobility Group box 1 (HMGB1): an alarmin mediating the pathogenesis of rheumatic disease. Arth Res & Ther. 2008;10.

<sup>xviii</sup> Pavare J , Grope I, Kalnins I y Gadovska D. High – mobility Group box-1 protein, lipopolysaccharide-binding proteína, interleukin.6 and C-reactive proteína in children with community acquired infections and bacteremia:a prospective study. BMC Infect Dis. 2010;10.

<sup>xix</sup> Robles Díaz G, Duarte Rojo A, Escobar MC, Ramírez MT, Aguirre J, Ferat Osorio E, Isibasi A, Gutiérrez Reyes G. Asociación de la proteína HMGB1 con el desarrollo de gravedad e infección en pancreatitis aguda. Rev Gastroenterol Mex. 2007;72 (Supl 2).

<sup>xx</sup> Pvlidis TE, Pavlidis ET y Sakantamis A.Advances in prognostic factors in acute pancreatitis. Heotobiliary Pancreat Dis Int. 2010;9.

---