



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN ESTUDIO DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS
SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**“ASOCIACION DEL POLIMORFISMO GENETICO: FACTOR DE NECROSIS
TUMORAL ALFA EN SU VARIEDAD -308 A/G EN PACIENTES
PEDIATRICOS EN SUS ESCENARIOS DE SEPSIS, CHOQUE SEPTICO Y
FALLA ORGANICA MULTIPLE INGRESADOS A LA TERAPIA INTENSIVA
PEDIATRICA Y EL ROL QUE JUEGA”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:
DRA. IRMA ELENA CEDILLO GUTIERREZ**

**PARA OBTENER EL TITULO DE ALTA ESPECIALIDAD EN
MEDICINA CRITICA PEDIATRICA**

**ASESOR DE TESIS:
DR. OSVALDO ERICK SANCHEZ HERNANDEZ**

NO DE REGISTRO DE PROTOCOLO

209.2015

MEXICO, D.F. 2015





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.

DR. FÉLIX OCTAVIO MARTÍNEZ ALCALÁ
COORD. DE ENSEÑAZA E INVESTIGACIÓN

DR. GUILBALDO PATIÑO CARRANZA

JEFE DE ENSEÑANZA

**DRA. MARTHA EUNICE RODRÍGUEZ
ARELLANO**

JEFE DE INVESTIGACION

DR. JORGE FEDERICO ROBLES ALARCON
PROFESOR TITULAR DEL CURSO

DR. OSVALDO ERICK SANCHEZ HERNANDEZ
ASESOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar de todo corazón mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas y profesores que me brindaron su colaboración, sus conocimientos, su ayuda incondicional y por sobre todo su amistad durante la realización de esta investigación. Este es el esfuerzo de un gran equipo de trabajo, a cada uno de ellos, Gracias.

A DIOS, esa fuerza superior en quienes muchos no creen y se respeta, pero a ese ser que es omnipotente, quien me regalo a mí familia, quien me regala cada amanecer y por sobre todo quien me regala el entendimiento para realizar cada reto de vida.

A mis padres IRMA Y MANUEL, quien siempre estan pendientes de encomendarme en sus oraciones y de pedir por mí, para que cada día sea mejor, no solo en lo que hago como profesionista, sino de ser mejor como persona, a ellos por ayudarme, apoyarme y comprenderme en todo momento a quienes tanto amo de nuevo Gracias. Lo logramos otra vez.

A mis hermanos LUZ, ERIKA y RICARDO por su apoyo incondicional y con su amor me han enseñado a salir adelante, gracias por su paciencia por preocuparse por mí, gracias por compartirme sus vidas y sobre todo por estar siempre cuando los necesito.

Al Dr. Osvaldo Erick Sánchez Hernández, pionero e investigador en la Medicina Genómica y su aplicación clínica en el área de terapia intensiva pediátrica, por brindarme una oportunidad, por sus valiosos aportes, dedicación constante, confianza depositada en mí y porque en muchas oportunidades el tiempo transcurre muy rápidamente, pero descubres que no solo hay conocimiento, sino también hay lazos de amistad y personas de gran calidad humana.

Al Dr. Jorge Federico Robles Alarcón Médico Pediatra Intensivista, Docente, Coordinador del Área Pediátrica, Fundador con un espíritu incansable sobre Medicina Crítica Pediátrica y Profesor titular del curso quien con su valioso conocimiento, enseñanzas y apreciables asesorías, ha aportado grandes beneficios para la realización de esta investigación, además de su amistad que hacen de la vida un sabor especial y una experiencia enriquecedora en cada vivencia.

Al Dr. Sergio Pérez Arauz Médico Pediatra Intensivista, Jefe del Servicio por ser ante todo un amigo incondicional de gran espíritu y calidad humana, en las buenas y en las malas. Gracias por haberme brindado sus conocimientos en el área, apoyo, escucha, alegría, complicidad, ánimo contagioso, por creer en mí y por haber hecho de estos dos últimos años una vivencia inolvidable de vida y por sobre todo por no dejarme desfallecer, y así poder llevar acabo cada meta trazada en esta Institución.

Al Dr. José Luis Escudero Castro Médico Pediatra Intensivista, Adscrito del Área y Profesor del Curso, así como modelo inspirador a seguir a través de ejemplos, por su gran disciplina, dedicación, actualización y ética invaluable que nos transmite ante cada caso que se nos presenta, Gracias por darme la oportunidad de realizar mis estudios de Alta Especialidad y sobre todo por su paciencia.

INDICE

RESUMEN	6
ABSTRAC	8
1. INTRODUCCION	10
2. DEFINICION DEL PROBLEMA	13
3. OBJETIVOS	13
3.1 OBJETIVO GENERAL	13
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	13
4. JUSTIFICACION	14
5. MATERIAL Y METODOS	15
5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	19
5.2 GRUPO PROBLEMA	20
5.3 ANALISIS ESTADISTICO	22
6. RESULTADOS	23
7. ANEXO	36
8. DISCUSION	37
9. CONCLUSIONES.....	38
10. BIBLIOGRAFIA	39

RESUMEN

INTRODUCCION

La sepsis, el choque séptico y falla orgánica múltiple continúan entre las principales causas de morbi-mortalidad con elevada incidencia y prevalencia en pacientes pediátricos críticamente enfermos motivo de interés en la investigación presente. Antiguamente se pensaba que la sepsis ocurría cuando la infección alteraba las defensas y desencadenaba la respuesta inflamatoria, sin embargo la apreciación sobre este proceso ha evolucionado. Activándose cascadas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias que son estimulados como parte de la respuesta inmune o inflamatoria normal. Existiendo mecanismos antiinflamatorios compensatorios que ayudan a balancear la respuesta apropiadamente y son esenciales para la resolución exitosa de la inflamación y del proceso infeccioso en todas sus etapas. Sin embargo, también puede contribuir a una inadecuada inmunosupresión que padezca el enfermo críticamente enfermo por la patología de base y así encontrando estos temas con etiología multifactorial. No sólo pensar en la intervención de un agente patógeno que acelera su evolución y la Historia Natural de la Enfermedad, ni en sus complicaciones llegando a inmunosupresión, hay varios factores determinantes como la Reserva Orgánica, Composición corporal, las Alteraciones Nutricionales y Metabólicas, la Respuesta Neuroendocrina al Estrés, el papel que juegan las Moléculas de Adhesión, la Interacción con otras patologías, las Bases Moleculares y genéticas Dando auge a la Medicina Genómica tema de interés en la presente tesis con la Expresión Génica y su asociación del Polimorfismo: Factor de Necrosis Tumoral Alfa variedad -308 A/G en los escenarios mencionados y la correlación con marcadores bioquímicos y datos clínicos llevándonos de la mano para clasificarlos e identificarlos de acuerdo a su evolución y así posicionar predictores de muerte o evitar disfunción multiorgánica gracias a ellos.

Por lo anterior es importante ampliar nuestros conocimientos científicos acerca de la Genómica e identificar polimorfismo relacionados y que encaminan a nuestro paciente a sufrir menos y tratar tempranamente sus con-morbilidades y complicaciones. Motivo por el cual es necesario estratificar, conocer el metabolismo y eficacia de los mediadores inflamatorios, evaluar la severidad del cuadro clínico, mejorar el entendimiento fisiopatológico y predecir en un futuro sus complicaciones a través de la Medicina Genómica.

OBJETIVO

Asociar el Polimorfismo Genético: Factor de Necrosis Tumoral Alfa en su variedad -308GA en pacientes pediátricos en sus escenarios de sepsis, choque séptico y falla orgánica múltiple ingresados a la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, abierto, observacional, a todos los pacientes ingresados a la terapia intensiva pediátrica que cumplan con los criterios de inclusión, derechohabientes del ISSSTE, Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos abarcando el período del 01 de noviembre del 2014 al 30 de mayo del 2015. Se analizaron 32 pacientes con los diagnósticos de sepsis, choque séptico en sus presentaciones de hipodinamia e hiperdinamia y algunos terminando en falla orgánica múltiple. Se excluyeron 2 pacientes que presentaron historia incierta en su manejo y además referidos de otra unidad hospitalaria. Las variables estudiadas fueron (edad, sexo, diferentes variables: datos de sepsis, choque séptico, falla orgánica múltiple y su comportamiento clínico y bioquímico).

Las variables posibles de análisis fueron previamente medidas y capturadas (cuantitativas) en base a la definición. Se tomaron en cuenta aquellas que tienen una relación directa con nuestro

objetivo es decir edades pediátricas, sexo, diagnóstico, variables clínicas, bioquímicas, expresión genética de acuerdo a polimorfismos, alelos y herencia homocigota vs heterocigota, incluyendo factores predictores de mortalidad. Los datos fueron extraídos del expediente clínico de cada uno de los pacientes ingresados en la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP). Llevado a cabo por el robot de extracción y purificación del ácido desoxirribonucleico (DNA) con el nombre de "InviGenius Stratec Molecular", Sistema de PCR en tiempo Real 7500 y a través de Perlas Magnéticas. A partir de la extracción de sangre total otorgándose un número de registro (ID) = (09.9.001.1 - 09.9.032.1). Los resultados fueron analizados por el Applied Biosystems Veriti 95 Well Thermal Cyder y el programa SPSS 9.0, además el sistema de análisis estadísticos Shahannon-Wiener, ejecutando el test de la t de Student para muestras pareadas, cuyas diferencias fueron significativas para los valores de $p < 0,05$, Comparada con marcadores bioquímicos: VSG, PCR (reactantes de fase aguda), leucocitos totales, plaquetas, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial, creatinina, amilasa, lipasa, TGO, TGP, Bilirrubina e índice de kirby: PaO₂/FiO₂. Además de datos clínicos Escala de Coma de Glasgow, reacción pupilar, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión arterial sistémica, fiebre y el sistema afectado. Se emplearon además métodos de estadística descriptiva: Tablas de frecuencia, Tablas de Contingencia, Gráficas de barra Univariadas, Gráficas de barra Bivariadas y métodos de estadística inferencial: prueba de independencia Ji-cuadrada de Pearson, Prueba Z para comparación de dos proporciones, Prueba de Ji-cuadrada para comparar tres ó más porciones. Intervalos de confianza basados en el método binominal para la proporción.

RESULTADOS

El presente estudio se basó en una muestra de 32 pacientes durante el período de recolección de muestra (promedio de 7 meses) al finalizar el estudio se confirmó la asociación del polimorfismo casi en todos los casos a pesar de los diferentes Estadios de la Sepsis. Comparados con marcadores bioquímicos y clínicos que van muy de la mano llegando a la conclusión que si se identifica el polimorfismo al inicio del estadio de sepsis se podrá prevenir y evitar que lleguen nuestros pacientes a Falla Orgánica Múltiple e incluso la muerte.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran la asociación del polimorfismo buscado en casi todos los diferentes Estadios de la Sepsis con estadística significativa, esto quiere decir que si identificamos al inicio de los síntomas la expresión genética encontrada podemos modificar las terapéuticas empleadas para evitar que culminen en Falla Orgánica Múltiple y Muerte o incluso en un futuro nuevas dianas terapéuticas con modificación del propio ADN, lo que si es un hecho; se descarta la teoría de la sepsis que es sólo causada por uno o varios agentes patógenos, sino más bien es la relación genética con estos agentes patógenos. Queda la puerta abierta para futuras investigaciones.

PALABRAS CLAVE: *Sepsis, Choque Séptico; Falla Orgánica Múltiple, Polimorfismos, Medicina Genómica, Marcadores Bioquímicos, datos clínicos, Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica.*

ABSTRAC- SUMMARY

INTRODUCTION

Sepsis, septic shock and multiple organ failure still among the leading causes of morbidity and mortality with high incidence and prevalence in pediatric patients critically ill motive of interest in this investigation. It was once thought that sepsis infection occurred when altering the defenses and the inflammatory response triggered, however, the assessment of this process has evolved. Activated pro-inflammatory and anti-inflammatory properties that are stimulated as part of the immune response or normal inflammatory cascades. Antiinflammatory compensatory mechanisms exist that help balance the response appropriately and are essential to the successful resolution of inflammation and infectious process in all its stages. However, it can also contribute to inadequate immunosuppression who critically ill patient by the underlying disease and thus finding these issues with multifactorial etiology. Not only think about the intervention of a pathogen that accelerates its evolution and natural history of the disease or its complications reaching immunosuppression, there are several determinants as Statutory Reserve, body composition, nutritional and metabolic disorders, Response Neuroendocrine Stress the role of adhesion molecules, the interaction with other diseases, the molecular basis and genetic giving rise to Genomic Medicine topic of interest in this thesis Gene Expression and Polymorphism Association: Necrosis Factor Alfa tumor range -308 A / G in the above scenarios and the correlation with clinical data and biochemical markers us by the hand to classify and identify them according to their development and well positioned predictors of death or prevent multiorgan dysfunction because of them.

Therefore it is important to expand our scientific knowledge about the genomics and identify related polymorphism and routed to our patient to have fewer early and treat her with-morbidities and complications. Why we need to stratify, knowing the metabolism and efficacy of inflammatory mediators, assess the severity of the clinical, pathophysiologic improve understanding and predict its complications in the future through Genomic Medicine.

GOAL

Associate genetic polymorphism: Tumor Necrosis Factor Alpha in its variety -308GA in pediatric patients in their stage of sepsis, septic shock and multiple organ failure admitted to the Pediatric Intensive Care Unit.

MATERIAL AND METHODS

A longitudinal, prospective, open, observational study, all patients admitted to the pediatric intensive care that meet the inclusion criteria, beneficiaries ISSSTE Regional Hospital Lic. Adolfo Lopez Mateos covering the period from November 1, 2014 30 May 2015. 32 patients with diagnoses of sepsis, septic shock in their presentations and hyperdynamia hypodynamy and some ending in multiple organ failure were analyzed. 2 patients who had an uncertain history in handling and also referred to another hospital unit were excluded. The variables studied were (age, sex, different variables: data sepsis, septic shock, multiple organ failure and clinical and biochemical behavior).

Possible analysis variables were previously measured and captured (quantitative) based on the definition. It took into account those that have a direct relationship with our objective ie pediatric age, sex, diagnosis, Clinical, biochemical, gene expression according to polymorphisms, alleles and homozygous vs heterozygous inheritance, including predictors of mortality. Data were extracted from the medical records of each of the patients admitted to the Pediatric Intensive Care Unit (PICU). Carried out by the robot extraction and purification of deoxyribonucleic acid (DNA) with the name "Molecular InviGenius Stratec" PCR System 7500 Real time and through Magnetic Beads. From the extraction of whole blood OCTs shall receive registration number (ID) = (09.9.001.1 - 09.9.032.1). The results were analyzed by the Applied Biosystems Veriti 95 Well Thermal Cyder and running SPSS 9.0 Shahannon-Wiener, t test for paired samples, whose differences were significant for values of $p < 0.05$ compared with biochemical markers: VSG PCR (acute phase reactants), total leukocyte count, platelet count, prothrombin time, partial thromboplastin time, creatinine, amylase, lipase, SGOT, SGPT, bilirubin and kirby index: PaO₂ / FiO₂. Besides Glasgow Coma Scale, pupil reaction, heart rate, respiratory rate, systemic blood pressure, fever, clinical data, affected system. Frequency tables, crosstabs, Charts Univariate bar, bar Bivariate Charts and methods of inferential statistics: independence test Pearson chi-square, Z test for comparing two proportions, also test methods were used descriptive statistics Chi-square to compare three or more servings. Confidence intervals based on the binomial method for proportions.

RESULTS

This study was based on a sample of 32 patients during the sample collection (average 7 months) at the end of the study the association of polymorphism in almost all cases despite the different stages of sepsis is confirmed. Compared with biochemical and clinical markers that are very closely and concluded that if the polymorphism at the start of stage of sepsis can be identified to prevent and avoid getting our patients to multiple organ failure and even death.

CONCLUSIONS

The results show the association sought in almost all different stages of sepsis with significant statistical polymorphism, this means that if we identify the onset of symptoms found gene expression can alter the therapeutic employed to prevent culminate in multiple organ failure and death or even a future new therapeutic targets with DNA modification itself, so if it is a fact; the theory of sepsis which is only caused by one or more pathogens are discarded, but rather is the genetic relationship with these pathogens. It left the door open for future research.

KEY WORDS: Sepsis, Septic Shock; Multiple Organ Failure, polymorphisms, Genomic Medicine, Biochemical Markers, clinical, Pediatric Intensive Care Unit.

INTRODUCCION

En las últimas décadas, los numerosos avances en el campo de la biomédica han viabilizado el entendimiento de la fisiopatología de la sepsis y permitido el descubrimiento de nuevos y complejos mecanismos, que además de resultar catastróficos para células y moléculas, pueden comprometer el estado del paciente que la padece; sin embargo, la mala evolución clínica y el pronóstico "reservado" en estos casos, no se han modificado notablemente, como muestra del insuficiente conocimiento sobre el tema. Tanto la morbilidad como mortalidad han ido incrementando paulatinamente, pues cada vez se trata a pacientes en estadios más avanzados del proceso morboso y gravemente enfermos, algunos con grave daño inmunológico por el uso de agentes quimioterápicos e inmunosupresores, alteraciones de la nutrición y del metabolismo y patologías neurológicas congénitas o adquiridas y por inadecuadas conductas médicas durante su permanencia en el hospital, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos (UCI) (1,2) donde la sepsis suele predominar como causa de muerte. De hecho, la aparición de un foco séptico es posiblemente la principal preocupación del equipo de salud que ejerce la medicina intensiva contemporánea.(3,4)

En todo el mundo se realizan diversas investigaciones para reducir la morbilidad y mortalidad por sepsis; y aunque se ha avanzado en el hallazgo de sustancias o moléculas que actúan en diferentes fases del momento fisiopatológico, aún no se ha logrado estandarizar su uso contra esta. Se trata de un proceso dinámico e interrelacionado, donde cada molécula tiene sus particularidades y sitio de acción, por lo que debe continuarse profundizando en la comprensión del proceso fisiopatológico para crear agentes efectivos que combatan la repercusión destructiva de las citoquinas sin perder sus efectos protectores. Actualmente, el tratamiento de la sepsis continúa basado en el empleo de antimicrobianos, la eliminación de los trastornos hemodinámicos, el mantenimiento de la oxigenación adecuada y el cumplimiento de las medidas de soporte orgánico.(5)

La definición de grupos de riesgo y su detección precoz, el desarrollo de estrategias preventivas y tempranas para lograr la curación de la enfermedad, la disminución de la mortalidad, los costos y la estadía, así como la rápida recuperación de los pacientes con el menor número de secuelas, constituyen, entre otros elementos, las principales premisas para aminorar este importante problema de salud tema de interés y el objetivo principal del trabajo presente. (6) Por todo ello se decidió asociar, identificar y profundizar en algunos aspectos relacionados a la Medicina Genómica en particular a la búsqueda de polimorfismos relacionados a la sepsis en sus distintos estadios, los cuales pudieran estar vinculados con la ocurrencia de morbilidad y mortalidad, tratando de buscar a través de la expresión genética las posibles respuestas buscadas en las últimas décadas por ejemplo dos pacientes pueden sufrir la misma infección bacteriana y uno sobrevive mientras el otro sucumbe al choque séptico y a la Falla Orgánica Múltiple (FOM); la existencia de la predisposición genética ha sido hipotetizada en muchos trabajos en donde se han enfocado estos aspectos que se encuentran en la respuesta del Factor de Necrosis Tumoral Alfa (FNTalfa) polimorfismo buscado en el presente trabajo en una de sus variedades más comunes -308 A/G sustentado en la bibliografía actual y la relación del pronóstico y la misma inflamación. A fin de que los resultados ayuden a mejorar, detener y prevenir estos indicadores en el territorio, de acuerdo con los conocimientos actuales.

El gen humano de FNT alfa está localizado en el brazo corto del cromosoma 6 en una región que contiene el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Mediante estas moléculas de MHC el sistema inmunitario es capaz de discriminar entre una respuesta nociva o ineficiente de un antígeno al identificarlo como propio o no propio al presentárselo a las células TCD4 y TCD8 y en esta región se encuentra el complejo del gen del sistema de antígeno de los leucocitos humanos, el HLA (human leukocyte antigen). Estas familias de supergenes de inmunoglobulinas y sus correspondientes productos de glucoproteínas se dividen en dos clases de acuerdo con sus propiedades bioquímicas y funcionales, en HLA clase I y el HLA clase II; entre estos dos se encuentra el HLA clase III. Las moléculas de clase I y II se pueden distinguir en razón de su estructura, distribución tisular y función; los de clase I incluyen las moléculas clásicas de histocompatibilidad localizadas en los locus HLA-A, IB, C y los de clase II que están en los locus HLA-DR, DQ y BP. Los de clase I entre otras funciones presentan el

antígeno ante el receptor CD8 del linfocito T que generalmente es citotóxico y éste es reconocido en combinación con la molécula clase I del HLA; por ejemplo cuando los antígenos de un virus se fragmentan en péptidos, se unen a la molécula clase I y son presentados al receptor CD8 de la célula T asesina y una vez reconocido el antígeno viral mata a la célula blanco que lleva todo el antígeno viral. Las moléculas clase II captan al antígeno como péptido procesado que es reconocido por el receptor CD4 del linfocito T, generalmente colaborador y en forma general en condiciones no fisiológicas de trasplante a la molécula II unida a fragmentos antigénicos no identificados sobre la célula del receptor despertando una respuesta en las células T trasplantadas del donador lo que da como resultado una reacción de injerto contra el huésped. Estas moléculas I y II contienen polimorfismos lo que quiere decir que el sitio de captación del antígeno no es siempre constante y aunque existe cierta selectividad para los antígenos carecen de una especificidad fina de captación como puede tener una inmunoglobulina. Las moléculas clase III abarcan los componentes C2 y C4 de la vía clásica de complemento y el factor B de properdina de la vía alterna; estas moléculas clase III no se activan como antígenos de trasplante ni presentan antígenos a las células T, la localización de los genes del complemento dentro del complejo HLA permanece sin explicación. En esta región también se encuentran los genes que determinan la 21 hidroxilasa A y B de la vía de la biosíntesis de esteroides codificada en el gen C y p21b adyacente al HLA-DR clase I y junto con los genes el complemento; aunque no se especifica su localización se han esquematizado en las regiones HLAB y DR. (7)

El sistema HLA es polimorfo en extremo y tiene múltiples formas alternativas llamadas alelos del gene en cada locus conocido; por ejemplo hay por lo menos 24 alelos diferentes en el locus HLA-AA y al menos 50 alelos distintos del locus HLA-B y cada alelo determina la estructura de una proteína glucoproteica y las distancias entre los genes se han determinado en kilobases (KB). Debido a su estrecha unión la combinación de alelos en cada locus de un cromosoma por lo general se hereda como una unidad y a ésta se le conoce con el nombre de haplotipo y debido a que cada individuo hereda un cromosoma de cada padre cada uno tiene dos haplotipos HLA, así todos los genes HLA son codominantes de manera que se expresan ambos alelos de un locus determinado HLA sobre las células, uno de cada padre. Basadas en la herencia mendeliana existen 25% de oportunidades de que dos descendientes compartan dos haplotipos, 50% de que compartan un haplotipo y 25% de que no compartan ninguno y sean totalmente HLA incompatible. Debido a que la pareja humana se forma al azar la frecuencia para encontrar un alelo determinado en un locus HLA con un alelo determinado en un segundo locus HLA debiera ser el producto de las dos frecuencias de cada alelo en la población; sin embargo, estas combinaciones se ve que exceden lo esperado y a este fenómeno se le denomina fenómeno de desequilibrio de eslabonamiento y es una diferencia entre las frecuencias observadas y las esperadas. (7,8,9)

En cuanto a la localización del gene del factor de necrosis tumoral alfa en el cual está enfocada la diferente respuesta a la sepsis éste está localizado en la región HLA clase III a 250 KB del centrómero del cromosoma y a 350 KB de la región telométrica del mismo; el gene que codifica al factor de necrosis tumoral beta (linfotóxina) flanquea al factor de necrosis tumoral alfa y ambos genes están organizados en forma similar; la aplicación de Lipopolisacáridos (LPS) en monocitos causa un incremento en la transcripción y traducción del factor de necrosis tumoral alfa y esta transcripción está determinada por todos los factores de transcripción dentro de las cinco regiones que flanquean el gene del mismo factor de necrosis tumoral alfa que contiene aproximadamente 210 nucleótidos además de varios factores de transcripción y sitios de unión así como otros elementos reguladores y sitios de represión. La posición del gene del factor de necrosis tumoral alfa dentro de la región que codifica en el MHC ha generado especulaciones con relación al papel del factor de necrosis tumoral alfa y sus alelos dentro del MHC y su relación con diversas enfermedades en particular aquellas con componentes autoinmunes e inflamatorios.

Diversos estudios han demostrado las variaciones individuales en la constitución o estimulación de la expresión del FNT alfa asociada a ciertos alelos de la fracción HLA-DR; la producción y el nivel del FNT alfa también depende de los haplotipos HLA-DR+, HLA-DR5, así como del HLA-DQW1+ que presenta una baja producción del FNT alfa (fenotipo de baja respuesta) mientras que la fracción HLA-DR3+ y la HLA-DR4+, presentaban alta producción de FNT alfa (fenotipo de alta respuesta). Generalmente la alta producción de FNT alfa esta

implicada en la progresión de las enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple o la artritis reumatoide, mientras que la baja producción está asociada a mayor susceptibilidad a las enfermedades infecciosas. Hay una creciente investigación que apoya que la variabilidad genética de la producción del FNT alfa puede afectar el pronóstico de las enfermedades tales como la sepsis por meningococemia, paludismo y enfermedades autoinmunes. Los polimorfismos de las cuatro bases de guanina a adenosina dentro de las regiones que promueven la producción del FNT alfa se han descrito en las posiciones 376-308-238 y las 163 del HLA y también se han descrito un polimorfismo dependiente de la base de citosina en una estrecha región de la posición 70 y además un fragmento NcoI de restricción en un polimorfismo largo (RFLP) que existe en el primer intrón del FNT beta y también se han detectado varios microsátélites en diversas posiciones dentro del locus del FNT beta.

Por otro lado un polimorfismo en la posición -308 ha sido asociado con el haplotipo HLA-A1-B8-DR3-DQ2 como un determinante en la producción del FNT alfa en las enfermedades infecciosas, mismo alelo FNT 2 heterocigoto se le han demostrado una asociación con la sepsis grave o choque séptico y producción del FNT alfa, así como con altos índices predictivos fisiológicos y de supervivencia en la FOM y también a los genotipos heterocigotos NcoI-RFLP, FNT beta 1, 1/FNT beta 2 ó los homocigotos FNT beta 1, 1/FNT beta 1,1 se les ha asociado a mayor supervivencia comparado con los genotipos homocigotos FNT beta 2/FNT beta 2.

Parece ser que el polimorfismo en la región -308 tiene influencia sobre el factor de transcripción del FNT alfa en respuesta a la endotoxina; aunque se tienen resultados contradictorios, algunos autores han demostrado que el alelo FNT2 está asociado a mayor inducción de los niveles de FNT alfa de transcripción que el alelo FNT 1.

El FNT alfa afecta a las células en forma diferente a través del inicio de distintas señales celulares de caminos de transducción y a través de estos caminos se llevan a cabo dos distintos tipos de respuesta celular:

- a) Activación de la maquinaria celular en la participación de la respuesta inflamatoria sistémica y
- b) El suicidio celular a través de la vía de la apoptosis.

Los polimorfismos en el FNT alfa también se asocian a una respuesta más severa a la infección y es común que el desarrollo de la sepsis peritoneal sea más agresivo e induzca más fácilmente a la FOM, así mismo el polimorfismo genético asociado con la deficiencia en la proteína C y proteína S en la cascada de la coagulación se reportan como causa de púrpura fulminante en niños que induce a choque séptico durante la meningococemia y desarrollo de la coagulación intravascular diseminada. Aun cuando la reseña detallada de los genes afectados es más apropiada para el campo de la biología molecular estos genes también tienen interés para el especialista en terapia intensiva pediátrica, porque sus productos regulan la expresión de muchos otros genes y son genes expresados en células normales, cuyos productos típicamente regulan pasos clave en la replicación celular y desempeñan papeles esenciales en la regulación de la traducción de señales de expresión genética; este es uno de los errores hallados con más frecuencia por el especialista en terapia intensiva y el proceso inflamatorio que sigue al desarrollo de la FOM es un ejemplo evidente y la falla reguladora no se debe al dominio regulador ni al dominio estructural del gen afectado sino más bien a la insuficiencia o el exceso de señales reguladoras como hormonas y citosinas y desde el punto de vista de la célula individual la expresión génica está regulada por un brazo afeotor (señales y transducción) y un brazo efector / transcripción, transducción y pasos intermedios). No se han identificado un gen del "shock" o de la lesión; más bien existen cientos de ellos y aun cuando las herramientas de la biología molecular proporcionan una idea única acerca de los mecanismos que regulan la expresión de estos genes, puede ser insuficiente para explicar las enfermedades críticas como la FOM; por lo tanto los investigadores básicos y clínicos se han concentrado en la identificación de señales traducidas en la membrana celular, basándose en el punto de vista de que la neutralización de señales categóricamente dañinas es suficiente para modificar la expresión genética adversa y mejorar el pronóstico. (7, 11, 12, 15, 24,25, 31).

DEFINICION DEL PROBLEMA

Existe Asociación del Polimorfismo genético: Factor de Necrosis Tumoral Alfa en su variedad -308 A/G en pacientes pediátricos en sus escenarios de sepsis, choque séptico y falla orgánica múltiple ingresados a la Terapia Intensiva Pediátrica.

OBJETIVO GENERAL

Documentar si existe una asociación del Polimorfismo genético: Factor de Necrosis Tumoral Alfa en su variedad -308 A/G en pacientes pediátricos en sus escenarios de sepsis, choque séptico y falla orgánica múltiple ingresados a la Terapia Intensiva Pediátrica

OBJETIVOS ESPECIFICOS

El objetivo general del estudio se alcanzó mediante la obtención de los siguientes objetivos específicos:

1. Realizar una base de datos para documentar el número de pacientes que presenten el Factor de Necrosis Tumoral alfa.
2. Estimar beneficios alternos para evitar sus complicaciones en sus diferentes estadios de la sepsis, choque séptico y falla orgánica múltiple
3. Comparar con marcadores bioquímicos: VSG, PCR (reactantes de fase aguda), leucocitos totales, plaquetas, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial, creatinina, amilasa, lipasa, TGO, TGP, Bilirrubina, índice de kirby: PaO₂/FiO₂.
4. Comparar con datos clínicos Escala de Coma de Glasgow, reacción pupilar, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión arterial sistólica, fiebre.
5. Identificar la Expresión genética de acuerdo a polimorfismos, alelos y herencia homocigota vs heterocigota.
6. Se incluyeron y compararon factores predictores de mortalidad con diferentes escalas PRISM (Score Pediatric Risk of Mortality).

JUSTIFICACION

La incidencia de sepsis grave varía según los diferentes estudios, la metodología y la población estudiada. En adultos se ha encontrado una incidencia de 47-300 casos por 100.000 habitantes, con una mortalidad entre 28-50%. Así, de forma global se puede estimar que en el mundo se producen unos 18.000.000 casos/ año de sepsis grave con 1.400 muertos al día. En la infancia no existen suficientes estudios epidemiológicos como para saber lo que supone en nuestro medio. Aunque se ha encontrado una incidencia de 56-60 sepsis /100.000 niños, incidencia que es mucho más alta en menores de 1 año (500-900/100.000), disminuyendo posteriormente (20/100.000). Así, los pacientes neonatales suponen más de un 33% del total y los menores de 1 año entre un 48-66% .La mortalidad hospitalaria global es de un 9-12,4%, si nos referimos a los pacientes ingresados un UCI pediátrica; aproximadamente un 23% tienen sepsis, y en la unidad donde trabajan los autores la mortalidad por sepsis es de 28.12%, y de estos en el 39.06% el choque séptico es la causa principal de mortalidad, siendo una de las entidades, si no la más frecuente de los ingresos a las terapias intensivas pediátricas.

Como sucede en adultos, la incidencia parece estar aumentando en relación con el aumento de la supervivencia de recién nacidos de muy bajo peso y de niños con enfermedades crónicas. Aproximadamente un 49% de los pacientes con sepsis tienen enfermedades subyacentes y/o falla orgánica múltiple en nuestro grupo estudiado con sepsis. El panorama de la sepsis está cambiando en nuestro medio, disminuyendo las sepsis extrahospitalarias en pacientes sanos, producidas por microorganismos incluidos en el calendario de vacunación y aumentando en pacientes con enfermedad de base o inmunocomprometidos.

En la actualidad se cuenta con las recomendaciones de la campaña para sobrevivir a la sepsis para el tratamiento de sepsis grave y choque séptico, para el manejo de este tipo de pacientes.

Las propuestas y recomendaciones de la campaña para sobrevivir a la sepsis no se llevan adecuadamente en todos los niveles de atención pediátrica en los diferentes hospitales. Por ese motivo debemos ampliar nuestros conocimientos científicos acerca del manejo según las recomendaciones y además aplicar e integrar la Medicina Genómica a través de los polimorfismo relacionados y que encaminan a nuestro paciente a sufrir menos y a presentar más tardíamente o evitar sus con-morbilidades. Es importante estratificar, conocer el metabolismo y eficacia de los mediadores inflamatorios, evaluar la severidad del cuadro clínico, mejorar el entendimiento fisiopatológico y predecir en un futuro sus complicaciones.

Debemos demostrar la incidencia y la asociación de la presentación del polimorfismo genético estudiado en la UTIP en todos los pacientes ingresados que cuenten con datos clínicos, marcadores bioquímicos y criterios para los diferentes estadios de sepsis.

Una iniciativa de varias sociedades científicas, que tenía como objetivo concientizar sobre este problema y conseguir una reducción de la morbilidad y mortalidad de la sepsis. Una de sus fases suponía el desarrollo de pautas de actuación clínica sobre sepsis grave y choque séptico. Y así, fruto del consenso internacional de varias sociedades científicas se publicaron las guías sobre el manejo de sepsis grave y choque séptico en el año 2004, que han sido actualizadas en el año 2008 y ahora en el año 2014. Además de que en todas las guías se presenta un apartado de las recomendaciones generales específicas para la sepsis pediátrica que se envían a cada país de acuerdo a la información recibida y se publican para su seguimiento.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio piloto longitudinal, prospectivo, abierto, observacional, a todos los pacientes ingresados a la terapia intensiva pediátrica que cumplan con los criterios de inclusión, derechohabientes del ISSSTE, Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos abarcando el período del 01 de noviembre del 2014 al 30 de mayo del 2015. Se analizaron 32 pacientes con los diagnósticos de sepsis, choque séptico en sus presentaciones de hipodinamia e hiperdinamia y algunos terminando en falla orgánica múltiple e incluso la muerte. Se excluyeron 2 pacientes que presentaron historia incierta en su manejo y además referidos de otra unidad hospitalaria, por cumplir con criterios de exclusión: no eran derechohabientes del ISSSTE, además de obtener poca muestra para la investigación y por no completar con todos los marcadores bioquímicos. Se revisaron prospectivamente los expedientes clínicos y los marcadores bioquímicos. En el estudio se incluyeron a 8 pacientes que tuvieron seguimiento a pesar de que el motivo de ingreso no era sepsis sino que durante su estancia en el servicio la presentaron, esto es, que se contagiaron por la predisposición genética asociada objetivo del trabajo de investigación.

Las variables estudiadas fueron (edad, sexo, diferentes variables: datos clínicos y sus diferentes estadios de sepsis, choque séptico, falla orgánica múltiple y su comportamiento bioquímico).

Una vez ingresados a la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica y bajo consentimiento informado. La ruta crítica fue entre el periodo de tiempo estimado abarcando desde el (1 noviembre del 2014 al 30 de mayo del 2015) donde se obtuvo la muestra por medio de sangre total para la extracción, purificación, desdoblamiento e identificación del ADN y localizar el polimorfismo estudiado FNT alfa -308.

Las variables de análisis fueron previamente medidas y capturadas (cuantitativas) en base a la definición. Se tomaron en cuenta aquellas que tienen una relación directa con nuestro objetivo es decir edades pediátricas, sexo, diagnóstico, variables clínicas, bioquímicas, expresión genética de acuerdo a polimorfismos, alelos y herencia homocigota vs heterocigota, incluyendo factores predictores de mortalidad. Los datos fueron extraídos del expediente clínico de cada uno de los pacientes ingresados en la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP).

Llevado a cabo por el robot de extracción y purificación del ácido desoxirribonucleico (DNA) con el nombre de "InviGenius Stratec Molecular", Sistema de PCR en tiempo Real 7500 y a través de Perlas Magnéticas. A partir de la extracción de sangre total otorgándose un número de registro (ID) = (09.9.001.1 - 09.9.032.1). Los resultados fueron analizados por el Applied Biosystems Veriti 95 Well Thermal Cyder y el programa SPSS 9.0, además Shahannon-Wiener, ejecutando el test de la t de Student para muestras pareadas, cuyas diferencias fueron significativas para los valores de $p < 0,05$, Comparada con marcadores bioquímicos: VSG, PCR (reactantes de fase aguda), leucocitos totales, plaquetas, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial, creatinina, amilasa, lipasa, TGO, TGP, Bilirrubina. Además de datos clínicos Escala de Coma de Glasgow, reacción pupilar, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión arterial sistémica, fiebre, índice de kirby: PaO₂/FiO₂, sistema afectado.

Se emplearon además métodos de estadística descriptiva: Tablas de frecuencia, Tablas de Contingencia, Gráficas de barra Univariadas, Gráficas de barra Bivariadas y métodos de estadística inferencial: prueba de independencia Ji-cuadrada de Pearson, Prueba Z para comparación de dos proporciones, Prueba de Ji-cuadrada para comparar tres ó más porciones. Intervalos de confianza basados en el método binominal para la proporción.

Métodos de Extracción

A) MANUALES ó AUTOMATIZADOS

B) SEGÚN TIPO DE SEPARACIÓN:

1. Basados en soluciones: (Método Fenol-Cloroformo, Guanidina tiocianato)

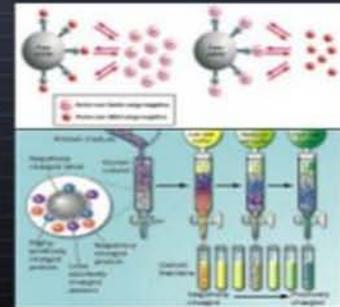
2. Basados en columnas cromatográficas:

• Cromatografía INTERCAMBIO IÓNICO

• Cromatografía ADSORCIÓN

→ Sales caotrópicas (cloruro de guanidinio, urea y tiourea)

• Partículas MAGNÉTICAS



EXTRACCIÓN MANUAL DE DNA

1. Sample Lysis Efficient lysis of fresh or frozen blood (EDTA, citrate, or heparin treated)		Mix Proteinase K, blood sample and Lysis Buffer 15 min incubation
2. Binding of DNA Lysate is loaded in one step		Transfer lysate onto NucleoSpin® Dx Blood Binding Column
3. Washing Removal of inhibitors and contaminants by two washing steps		Pipette 1st washing buffer (high salt concentration) Pipette 2nd washing buffer (low salt concentration)
4. Elution of genomic DNA Elution in azide free elution buffer, allowing direct photometric DNA quantification		Elute DNA in 50 - 200 µl Elution Buffer



REACTIVOS:

-DNA TLB: Tampón Tris-HCl, Triton x-100, KCl, EDTA, azida sódica.

-PK (PROTEINASA-K)

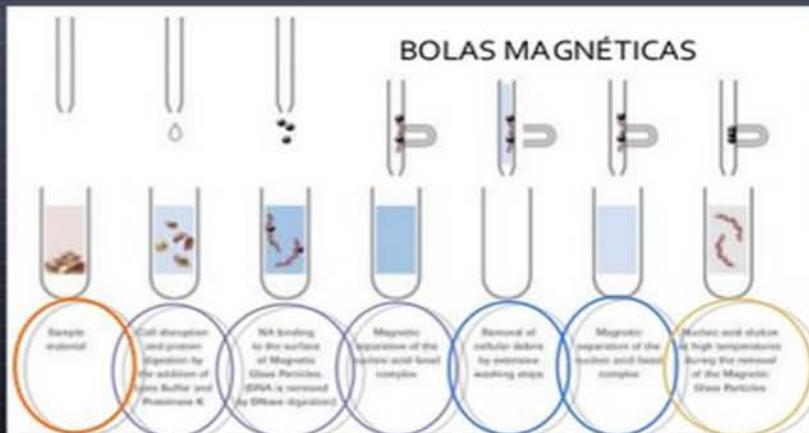
-DNA PBB: Tampón Tris-HCl, Hidrocloruro de guanidina, urea, Triton x-100 .

-WB I: Tampón Tris-HCl + 64% guanidina-HCl

-WB II: Tampón Tris-HCl + NaCl

-DNA EB: Tampón Tris-HCl + azida sódica (hiposalino), también H₂O

EXTRACCIÓN AUTOMATIZADA DE DNA



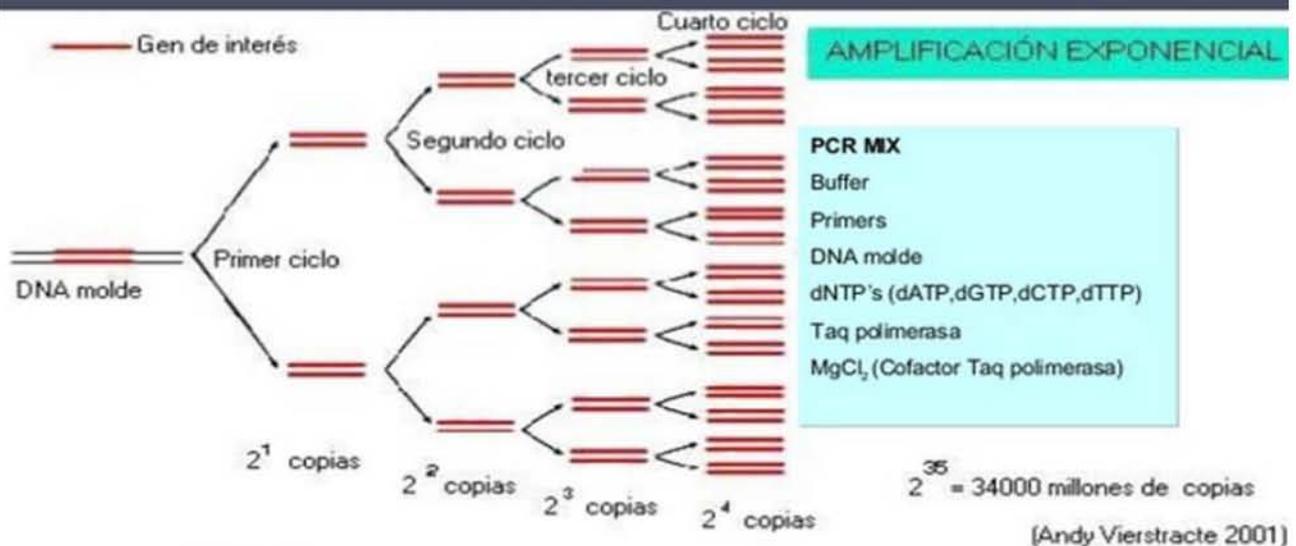
MagnaPure Compact ROCHE®



Características:

- Diferentes tipos de muestra: tejido, suero, sangre, plasma...
- Trabajar 1-8 muestras simultáneamente.
- Posibilidad de elegir volumen de elución (100-400 uL)
- Menor tiempo de extracción (35-50 min, según protocolo)
- Mayor protección para el operador: (Menor toxicidad reactiva) : Filtro HEPA y

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)



ETAPAS: 35 ciclos

1. **Desnaturalización** (94-96°C) 1-5 minutos
2. **Hibridación** (45-72°C) Unión de cebadores. Si aumentamos Tª, aumenta Especificidad de unión. También modificar el tiempo mejora la Sensibilidad/Especificidad.
3. **Extensión** (72°C) 2-5 minutos aprox. Depende del tamaño a amplificar (Act. Polimerasa)

DISEÑO DEL ESTUDIO

Bajo la autorización del comité de Investigación y con el objetivo de determinar la utilidad de la asociación e identificación del polimorfismo estudiado – 308 A/G en sus diferentes estadios de la sepsis para mejorar el manejo, prevenir complicaciones, reducir días de estancia hospitalaria, disminución de costos y en un futuro hasta manipular el ADN por medio de la Ingeniería Genómica.

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, abierto, observacional, a todos los pacientes ingresados a la UTIP, que cumplieron con los criterios de inclusión, derechohabientes del ISSSTE del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos durante el período del 01 de noviembre del 2014 al 30 de mayo del 2015. Los datos fueron extraídos del expediente clínico de cada uno de los pacientes ingresados en la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP).

Llevado a cabo por el robot de extracción y purificación del ácido desoxirribonucleico (DNA) con el nombre de “InviGenius Stratec Molecular”, Sistema de PCR en tiempo Real 7500 y a través de Perlas Magnéticas. A partir de la extracción de sangre total otorgándose un número de registro (ID) = (09.9.001.1 - 09.9.032.1). Los resultados fueron analizados por el Applied Biosystems Veriti 95 Well Thermal Cyder y el programa SPSS 9.0, además Shahannon-Wiener, ejecutando el test de la t de Student para muestras pareadas, cuyas diferencias fueron significativas para los valores de $p < 0,05$, Comparada con marcadores bioquímicos: VSG, PCR (reactantes de fase aguda), leucocitos totales, plaquetas, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial, creatinina, amilasa, lipasa, TGO, TGP, Bilirrubina. Además de datos clínicos Escala de Coma de Glasgow, reacción pupilar, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, presión arterial sistémica, fiebre, índice de kirby: PaO₂/Fio₂, sistema afectado.

Se emplearon además métodos de estadística descriptiva: Tablas de frecuencia, Tablas de Contingencia, Gráficas de barra Univariadas, Gráficas de barra Bivariadas y métodos de estadística inferencial: prueba de independencia Ji-cuadrada de Pearson, Prueba Z para comparación de dos proporciones, Prueba de Ji-cuadrada para comparar tres ó más porciones. Intervalos de confianza basados en el método binominal para la proporción.

Fueron incluidas en una base de datos en formato Excel los resultados en el que se incluyo a los pacientes pediátricos entre las edades: Grupo 1. De los 2 meses de edad hasta los 6 meses, Grupo 2. De 6 meses a los 12 meses, Grupo 3. De 1 año a los 3 años, Grupo 4. 3 a 5 años, Grupo 5. De los 5 años a los 10 años, Grupo 6. De los 10 años a los 17 años; tanto de primera vez como subsecuentes. Se organizaron en seis grupos según la edad. A los cuales se les midió ciertos marcadores bioquímicos además de ciertos datos clínicos y predictores de mortalidad. Se excluyeron a pacientes con otros tipos de patologías.

METODOS ESTADISTICOS Y SOFTWARE

Se emplearon métodos de estadística descriptiva: Tablas de frecuencia, Graficas de barras Univariadas, Graficas de barras bivariadas. Medidas de resumen estadístico (rango, amplitud). Los métodos de estadística inferencial empleados fueron: Prueba de Independencia Ji-cuadrada de Pearson, Prueba de Z para comparación de dos proporciones. Prueba de Ji-cuadrada para comparar tres o mas proporciones, Intervalos de confianza basado en el método binomial para la proporción bajo el programas SPSS 9.0, además Shahannon-Wiener, empleándose el test de la t de Student para muestras pareadas, cuyas diferencias fueron significativas para los valores de $p < 0,05$. Se compararon edad, sexo, grupo etario, los diferentes estadios de la sepsis, sitio de infección, polimorfismo asociado -308 A/G presente en heterocigotos y homocigotos y fueron comparadas con marcadores bioquímicos, datos clínicos y predictores de mortalidad.

GRUPO PROBLEMA

Abarca desde el periodo de lactantes desde los 2 meses de vida hasta los 17 años con 11 meses de edad con signos y síntomas, más marcadores bioquímicos de sepsis, choque séptico y falla orgánica múltiple.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se tomaron de una población pediátrica de 32 pacientes que corresponden al 55 % de las valoraciones e ingresos anuales a la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica.

GRUPO PROBLEMA

Grupo 1: 2 meses a 6 meses
Grupo 2: 7 meses - 12 meses
Grupo 3: 1 - 2 años 11 meses
Grupo 4: 3 – 5 años 11 meses
Grupo 5: 6 – 10 años 11 meses
Grupo 6: 11 – 17 años 11 meses

CRITERIOS DE INCLUSION

- Pacientes de ambos sexos
- Con edades comprendidas desde los 2 meses de vida hasta los 17 años de edad
- Con diagnósticos de ingreso o durante su estancia de los diferentes estadios de sepsis
- Con complicación de Falla Orgánica Múltiple o incluso la muerte
- Que acepten participar en el estudio mediante la firma del asentimiento y / o consentimiento informado
- Que se encuentren en tratamiento con antibióticos de amplio espectro
- Que ingresen a la Unidad de terapia Intensiva Pediátrica con datos clínicos que nos sugieran sepsis
- Que cuenten con ciertos marcadores bioquímicos VSG, PCR (reactantes de fase aguda), leucocitos totales, plaquetas, tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial, creatinina, amilasa, lipasa, TGO, TGP, Bilirrubina.
- Que cumplan con datos clínicos Escala de Coma de Glasgow, reacción pupilar, (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, presión arterial sistólica= > 2 Desviaciones Estándar para la edad), fiebre, índice de kirby: PaO2/FiO2, sistema afectado.

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Pacientes con otros diagnósticos que no sea sepsis
- Pacientes que cuenten con historia clínica incierta
- Pacientes que no sean derechohabientes del ISSSTE
- Pacientes que no cumplan con las edades de los 2 meses de vida a los 17 años
- Pacientes que no cumplan con todos los datos clínicos estudiados
- Pacientes que no cumplan con todos los marcadores bioquímicos estudiados
- Pacientes trasladados de otra Unidad Hospitalaria

CRITERIOS DE ELIMINACION

- Pacientes con expedientes incompletos
- Que no acepten firmar el consentimiento informado

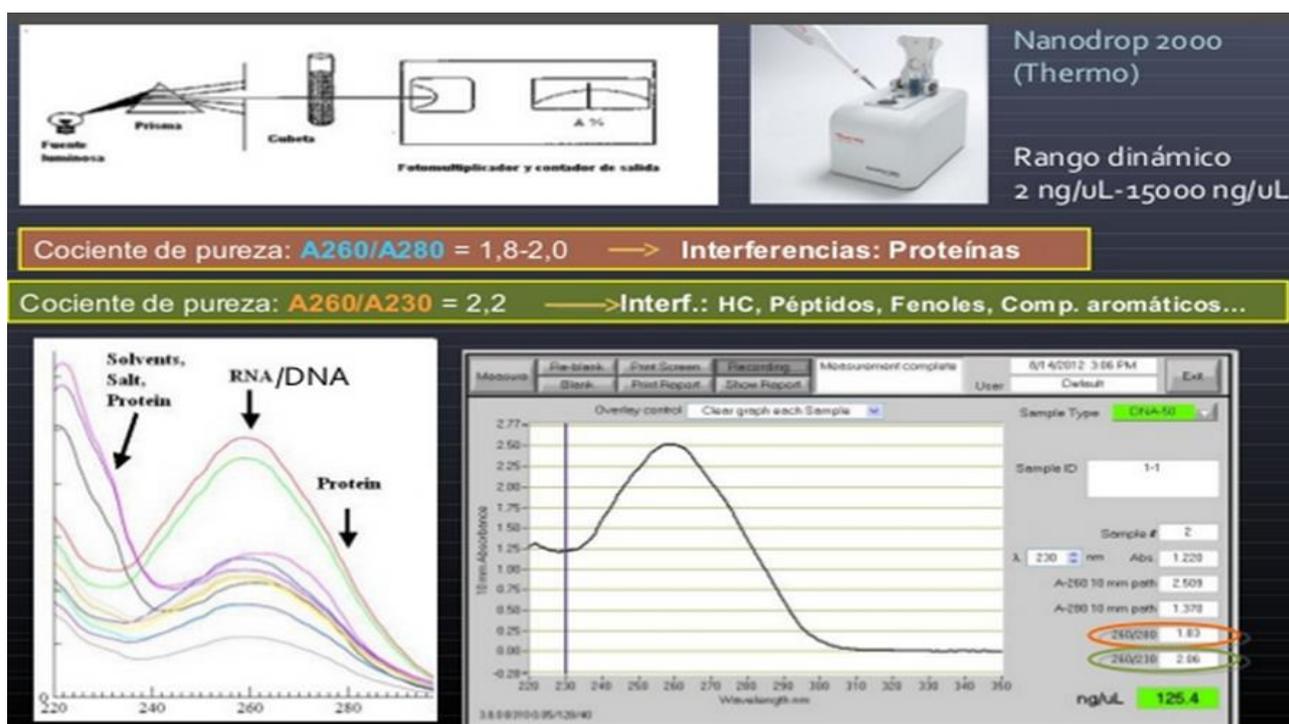
ANALISIS ESTADISTICO

El presente estudio se basó en una muestra de 32 pacientes con diagnóstico en los diferentes estadios de sepsis en la edad pediátrica de los cuales 2 fueron excluidos por no contar con criterios de inclusión, quedando sólo 30 pacientes para el estudio, sin contar con predominio de sexo ambos fueron del (50%) (grafica3). Siendo el mes de febrero del 2015 de mayores ingresos a la UTIP.

Se agrupo a la muestra en seis grupos etarios: Grupo 1. 2 meses a los 6 meses, Grupo 2. 7 meses a los 12 meses, Grupo 3. 1 año a los 2 años 11 meses, Grupo 4. 3 años – 5 años 11 meses, Grupo 5. 6 años a 9 años 11 meses y Grupo 6. 10 años a los 17 años 11 meses donde se buscó la distribución por género. La edad promedio y con más ingresos fueron en menores de 12 meses, debido a la falta de producción de defensas a esta edad siendo el grupo más susceptible a este tipo de escenarios estudiados en esta investigación.

La extrapolación a la población bajo estudio de la frecuencia con la que la variable grafica fue ejecutada se llevo acabo empleando intervalos de confianza (IC del 95%), estos están concentrados en la Tabla 13. La correlación de la frecuencia de acuerdo al grupo etario y género para la prueba Z de análisis estadístico reunidos en la Tabla 14. La frecuencia por género y expresión genética para el polimorfismo estudiado se encuentra en la Tabla 9 donde se muestra que es predominante en el sexo femenino con un 50% a comparación con el sexo masculino con 49 %, de los cuales la expresión génica más encontrada fue la heterocigota con predominio en ambos sexos: femenino 35% y del sexo masculino 24.5%. Encontrándose que la expresión genética heterocigota fué las más frecuentes y la única que proporcione estadísticamente significancia a favor del género femenino (Z=1.52). Las otros grupos problema no demostraron significancia alguna.

El análisis estadístico se realizó con los programas SPSS 9.0, además Shahannon-Wiener, empleándose el test de la t de Student para muestras pareadas, cuyas diferencias fueron significativas para los valores de $p < 0,05$. Se compararon los factores predictores de mortalidad como la escala de PRISM y la puntuación para su clasificación además se compararon con el tiempo de seguimiento.

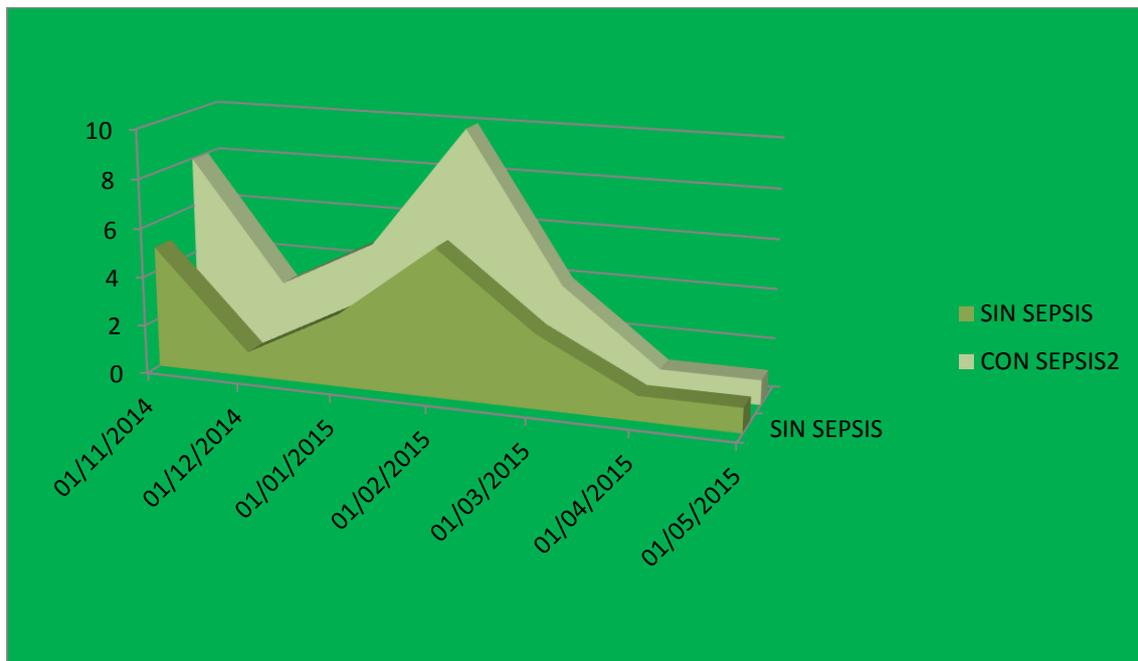


RESULTADOS

En el período que abarca (7 meses) el presente estudio, ingresaron en nuestro servicio un total de 52 pacientes, de ellos 32 pacientes con el diagnóstico de Sepsis y sus diferentes estadios, representando el 61.5% (Tabla 1).

Tabla 1: Frecuencia de la sepsis.

PACIENTES	CANTIDAD DE CASOS	PORCENTAJE (%)
CON SEPSIS	32	61.5 %
SIN SEPSIS	20	38.5 %
TOTAL	52	100 %



GRAFICA 1. DISTRIBUCION DE LA MUESTRA EN 52 PACIENTES INGRESADOS A UTIP EN EL PERIODO DE 7 MESES DE LOS CUALES EL 61.5% PRESENTARON SEPSIS O ALGUNOS DE SUS ESTADIOS.

TABLA 2. MES MÁS FRECUENTE DE INGRESOS DE SEPSIS: FEBRERO 2015

TIEMPO	SIN SEPSIS	CON SEPSIS
NOVIEMBRE 2014	5	8
DICIEMBRE 2014	1	3
ENERO 2015	3	5
FEBRERO 2015	6	10
MARZO 2015	3	4
ABRIL 2015	1	1
MAYO 2015	1	1

GRAFICA 2. MUESTRA LA FRECUENCIA EN TIEMPO DE PACIENTES CON SEPSIS EN EL PERIODO ESTUDIADO

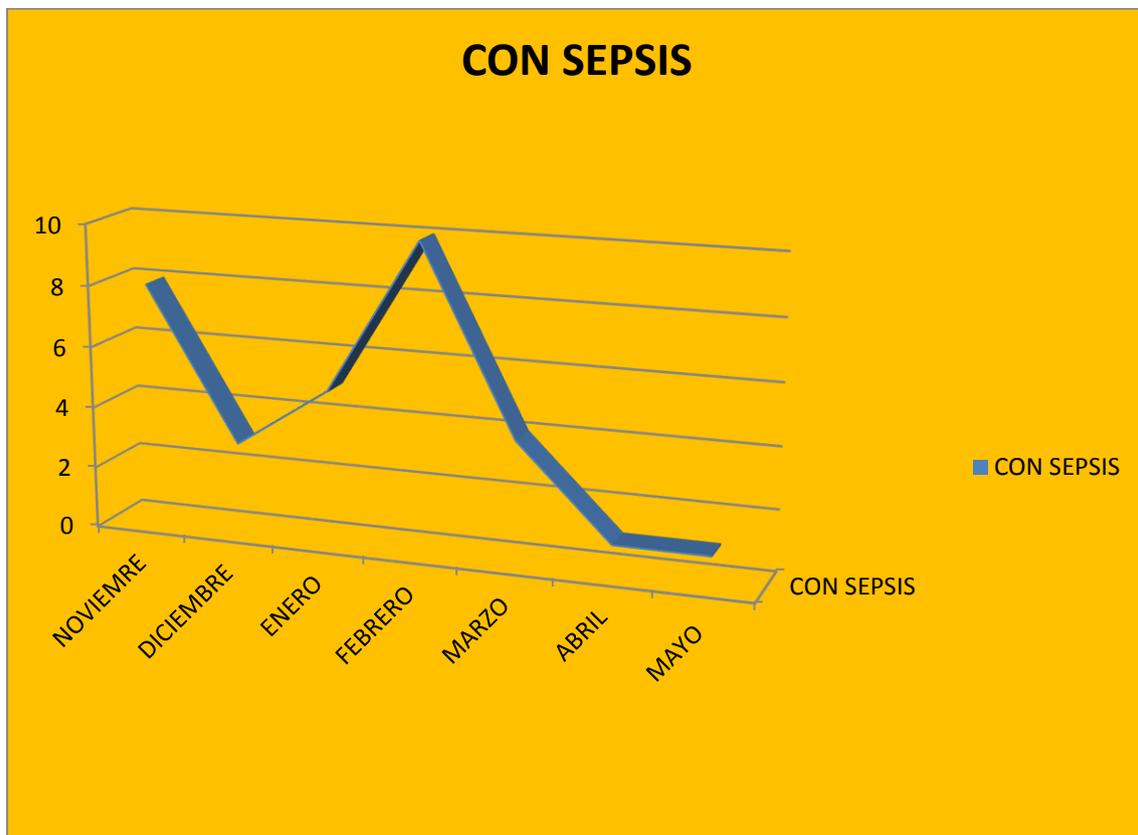


TABLA 3. FRECUENCIA DE SEXO EN LA POBLACION ESTUDIADA

PORCENTAJE	HOMBRE	MUJER
%	50 % (15)	50 % (15)

GRAFICA 3. DISTRIBUCION POR GENERO

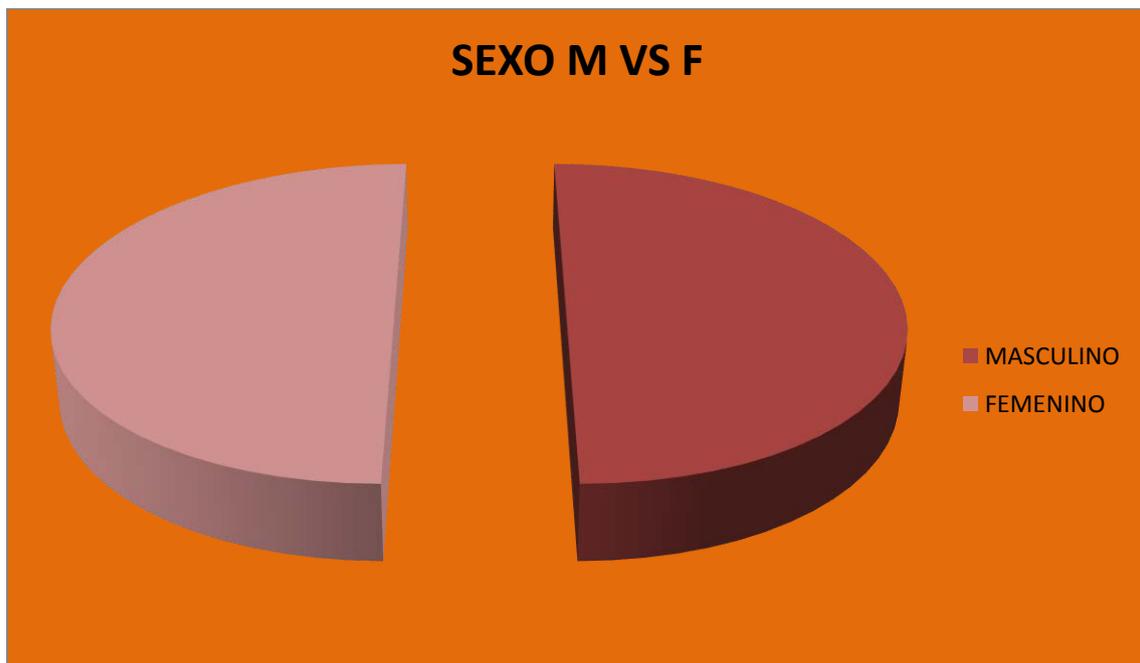


TABLA 4. DISTRIBUCION POR EDADES Y SEXOS

GRUPO DE EDAD	FEMENINO		MASCULINO		TOTAL	
	NO	%	NO	%	NO	%
GRUPO 1: 2-6 M	4	= 13.3	4	= 13.3	8	= 26.6
GRUPO 2: 6-12 M	5	= 15.9	3	= 10.7	8	= 26.6
GRUPO 3: 1- 3 A	0	= 0	2	= 6.6	2	= 6.6
GRUPO 4: 3 – 5 A	0	= 0	1	= 3.3	1	= 3.3
GRUPO 5: 5 – 10 A	3	= 8.9	1	= 4.4	4	= 13.3
GRUPO 6: 10 – 15 A	4	= 17.4	3	= 5.9	7	= 23.3

GRAFICA 4. DISTRIBUCION POR EDADES Y SEXOS

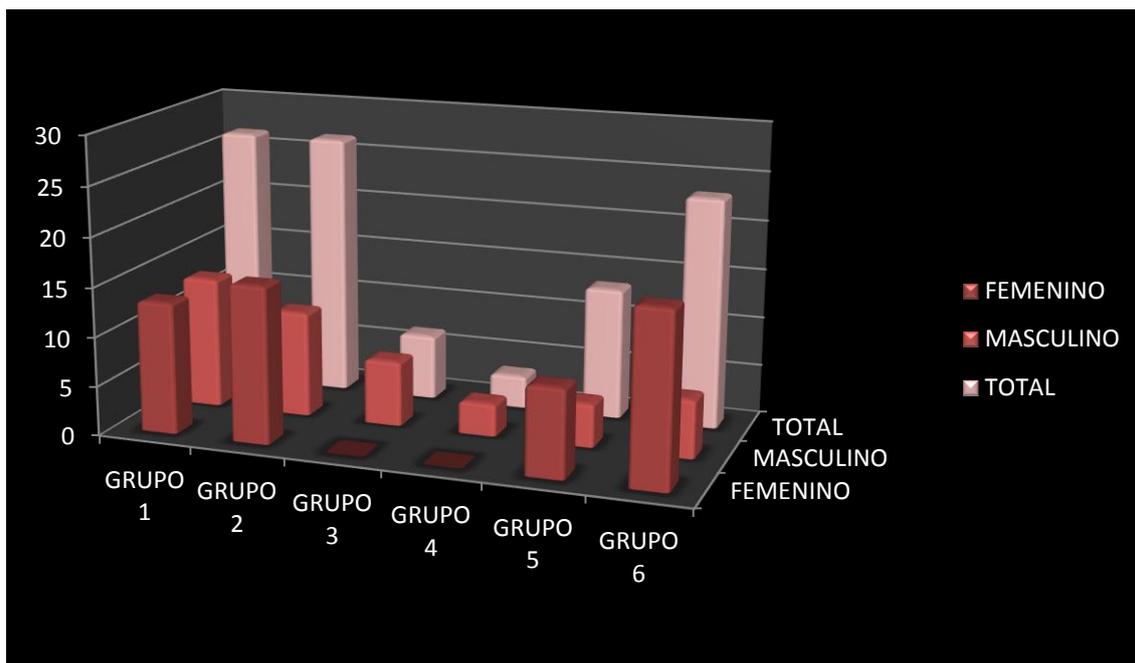
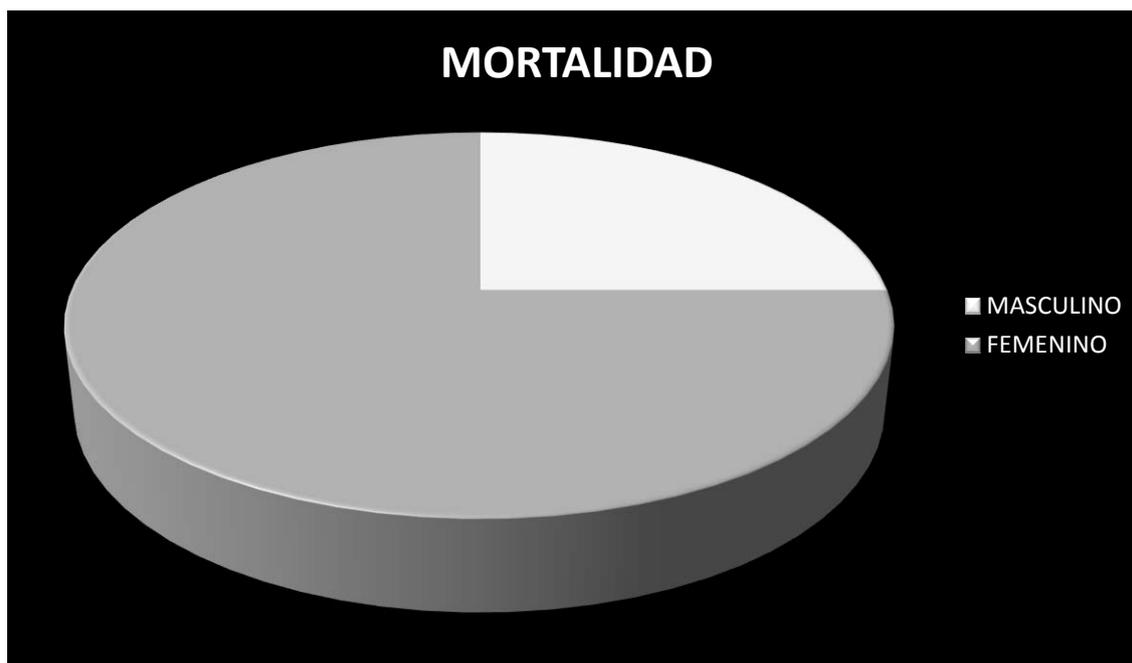


TABLA 5. MORTALIDAD RELACIONADA CON SEPSIS DE LOS INGRESADOS EN LA UTIP EN EL PERIODO ESTABLECIDO DE LA INVESTIGACION

MORTALIDAD	VIVOS	MUERTOS	TOTAL
MASCULINO	14	1	= 15
FEMENINO	12	3	= 15

GRAFICA 5. MORTALIDAD PREDOMINANTE DEL SEXO FEMENINO DE LOS INGRESADOS A LA UTIP CON SEPSIS – CHOQUE SEPTICO – FALLA ORGANICA MULTIPLE



GRAFICA 6. SUPERVIVENCIA PREDOMINANTE DEL SEXO MASCULINO DE LOS INGRESADOS A LA UTIP CON SEPSIS – CHOQUE SEPTICO – FALLA ORGANICA MULTIPLE



TABLA 6. FRECUENCIA DE LOS ESTADIOS DE LA SEPSIS DE LOS INGRESADOS A LA UTIP CON SEPSIS – CHOQUE SEPTICO – FALLA ORGANICA MULTIPLE

ESTADIOS DE LA SEPSIS	PRESENTACION DE CASOS
SEPSIS	18 = 60%
CHOQUE SEPTICO	9 = 30%
FALLA ORGANICA MULTIPLE	3 = 10%
TOTAL	30 = 100%

GRAFICA 7. FRECUENCIA Y PREDOMINIO DE LA SEPSIS EN LOS INGRESADOS A LA UTIP

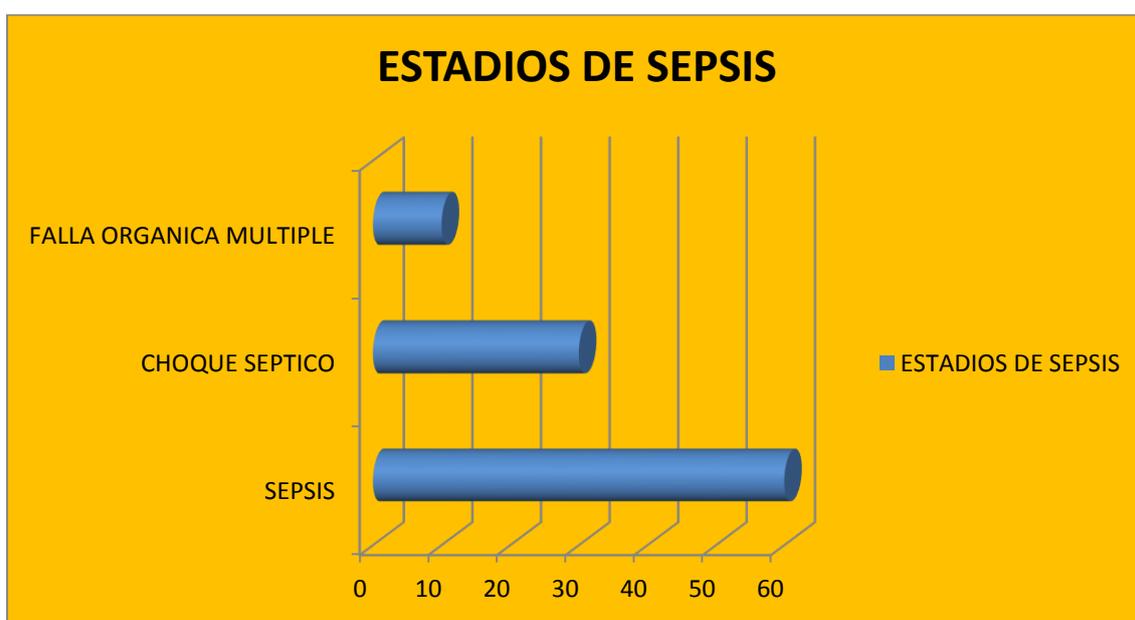


TABLA 7. FRECUENCIA DE SITIOS DE INFECCION DANDO ORIGEN A LA SEPSIS EN TODOS LOS INGRESADOS A LA UTIP EN EL PERIODO ESTABLECIDO PARA LA INVESTIGACION

SITIOS DE INFECCION	FRECUENCIA	PORCENTAJE
RESPIRATORIO	18	60.0 %
SNC	4	13.3 %
DIGESTIVO	1	3.3%
RENAL	2	6.6%
SEPSIS SIN FOCO	5	16.6%

GRAFICA 8. FRECUENCIA DE SITIOS DE INFECCION DANDO ORIGEN A LA SEPSIS EN TODOS LOS INGRESADOS A LA UTIP EN EL PERIODO ESTABLECIDO PARA LA INVESTIGACION

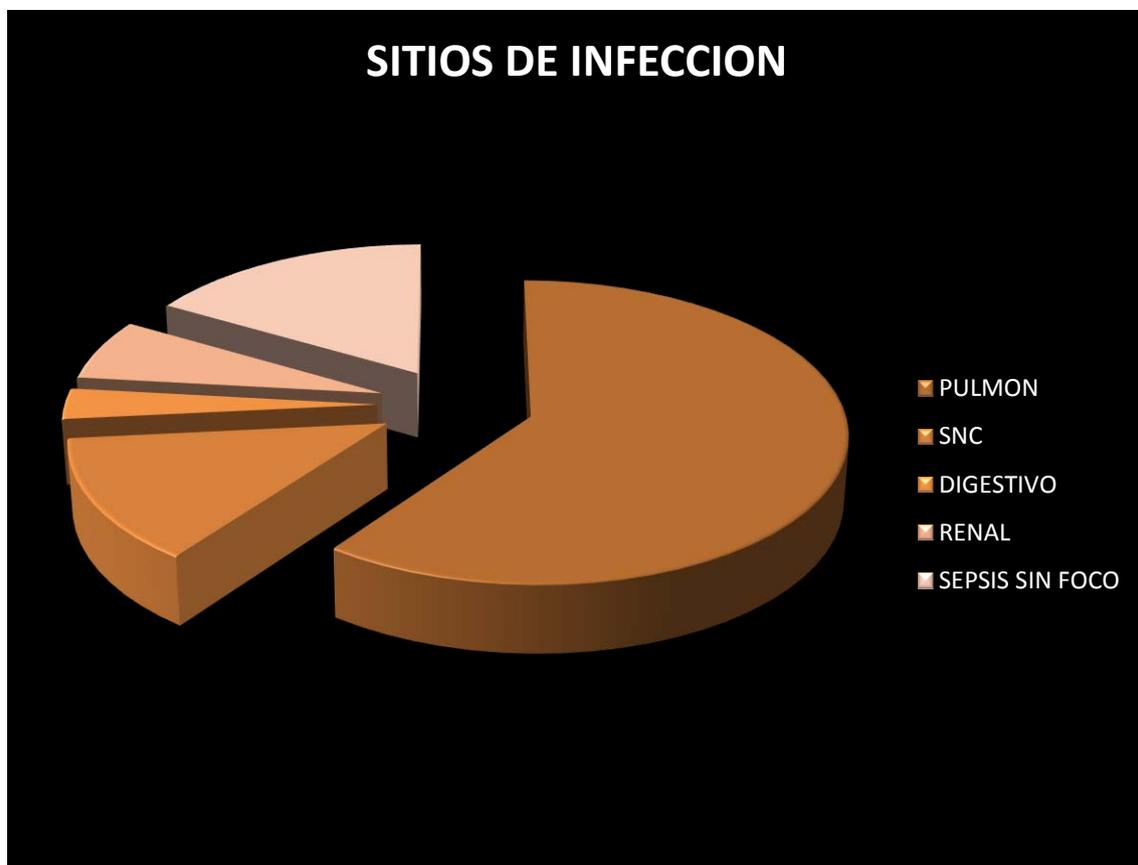


TABLA 8. TERAPEUTICA RECIBIDA A LOS INGRESADOS A UTIP EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE SEPSIS

TRATAMIENTO	NO. CASOS	PORCENTAJE %
VOLUMEN CRISTALOIDES O COLOIDES	30	100 %
ANTIMICROBIANOS	30	100 %
AMINAS VASOACTIVAS	25	83 %
VENTILACION MECANICA	29	96 %
INMUNOMODULADORES	3	10 %

GRAFICA 9. TERAPEUTICA RECIBIDA A LOS INGRESADOS A UTIP EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE SEPSIS

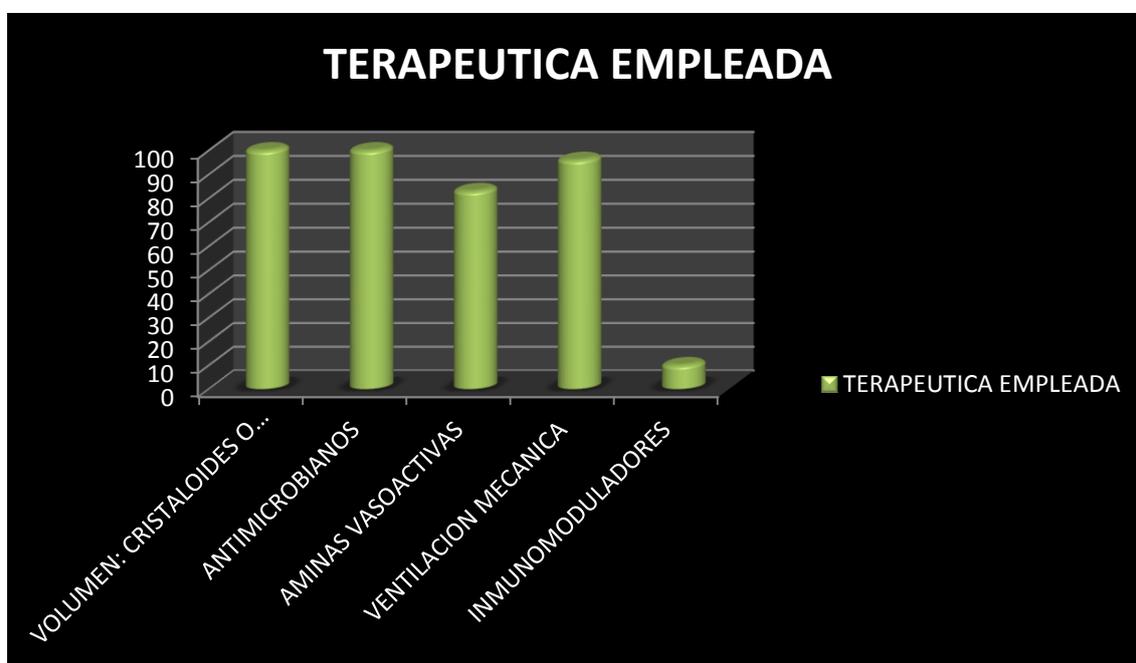


TABLA 9. FRECUENCIA POR GENERO Y EXPRESION GENICA DEL POLIMORFISMO FNT ALFA: VARIEDAD -308 A/G PARA SEPSIS EN LA POBLACION ESTUDIADA.

POBLACION TOTAL	POLIMORFISMO FNT ALFA: -308 A/G PARA SEPSIS
MASCULINO	14 = 49%
HOMOCIGOTOS	7 = 24.5%
HETEROCIGOTOS	7 = 24.5%
FEMENINO	15 = 50%
HOMOCIGOTOS	5 = 15%
HETEROCIGOTOS	10 = 35%

GRAFICA 10. FRECUENCIA POR GENERO Y EXPRESION GENICA DEL POLIMORFISMO FNT ALFA: VARIEDAD -308 A/G PARA SEPSIS EN LA POBLACION ESTUDIADA.

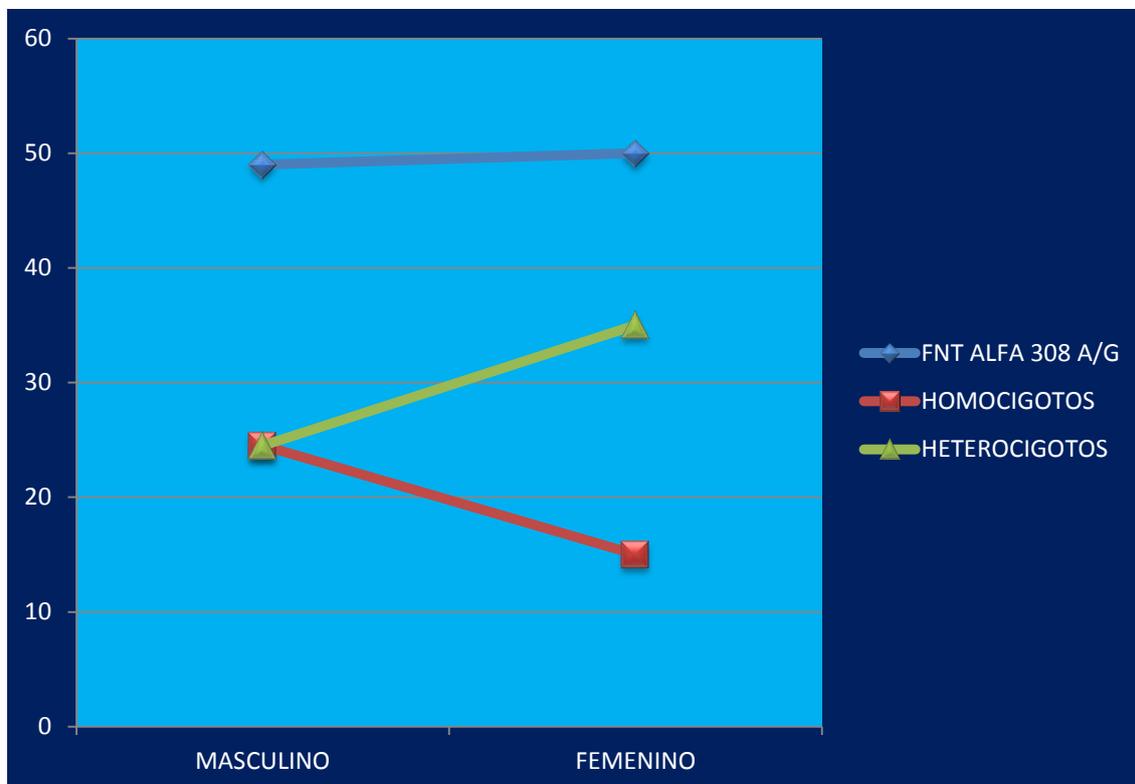


TABLA 10. DATOS CLINICOS ESTUDIADOS EN LOS PACIENTES INGRESADOS A LA UTIP EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE SEPSIS

SIGNOS Y SINTOMAS ENCONTRADOS	PORCENTAJE
DETERIORO DE LA ESCALA DE COMA DE GLASGOW	22 = 73.3%
REACCION PUPILAR ALTERADA (MIOSIS O MIDRIASIS)	28 = 93.3 %
FRECUENCIA CARDIACA > 0 < 2 DE	29 = 96.6%
FRECUENCIA RESPIRATORIA > 0 < 2 DE	23 = 76.6%
PRESION ARTERIAL SISTOLICA > 0 < 2 DE	30 = 100 %
FIEBRE	30 = 100 %

GRAFICA 11 Y 12. DATOS CLINICOS ESTUDIADOS EN LOS PACIENTES INGRESADOS A LA UTIP EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE SEPSIS POR PORCENTAJE $F(x)$.

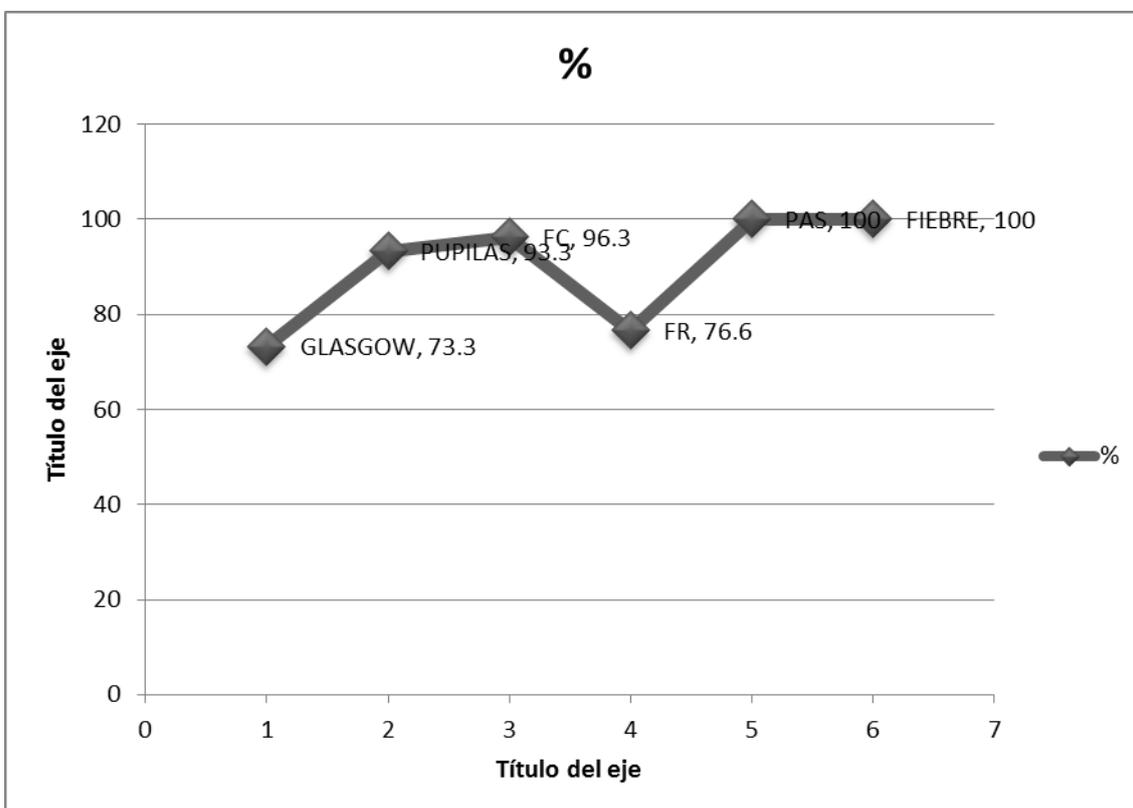
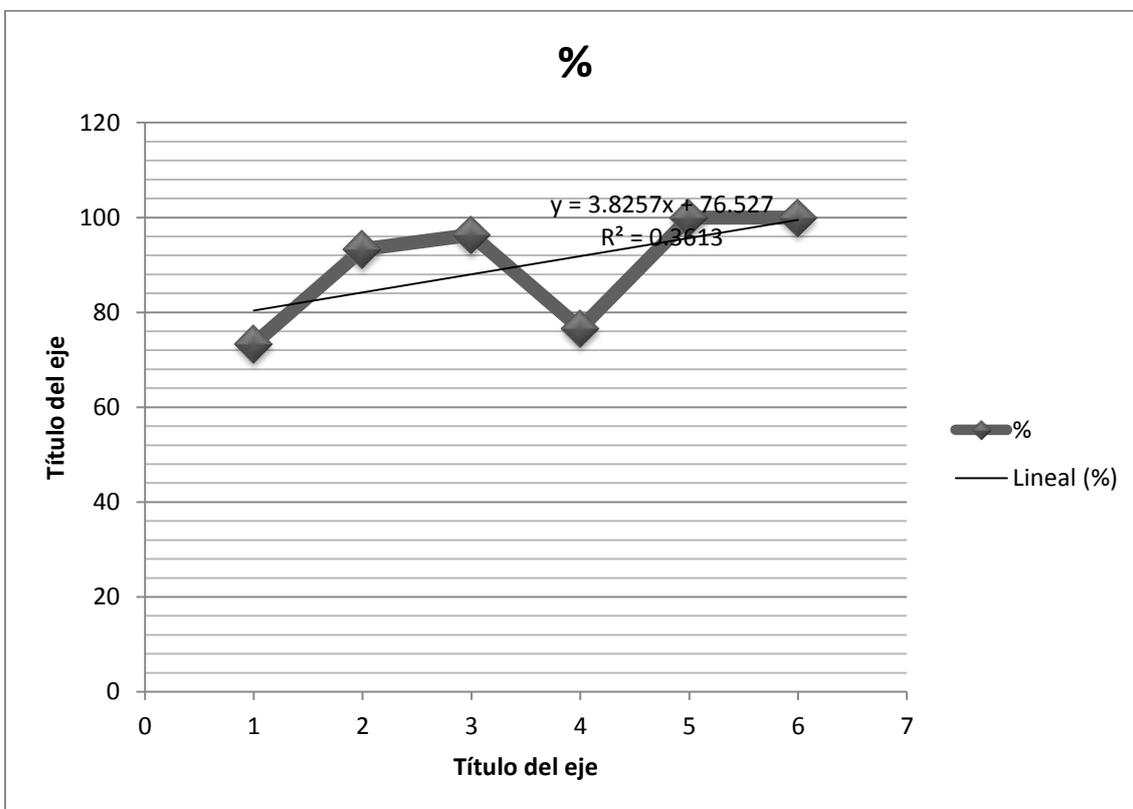
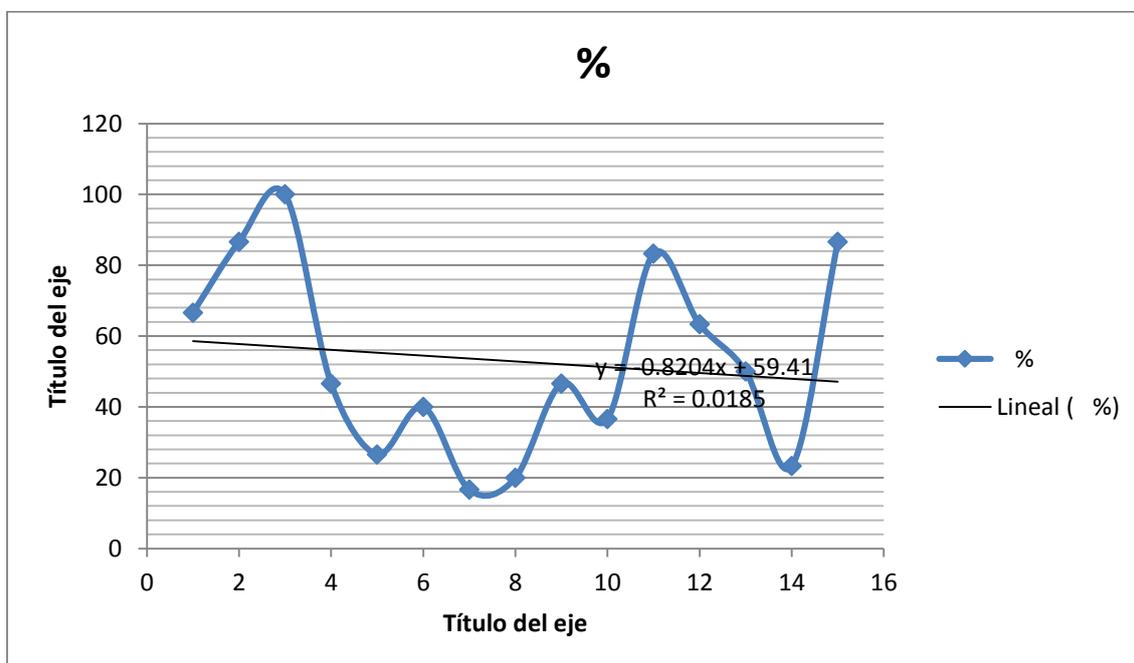


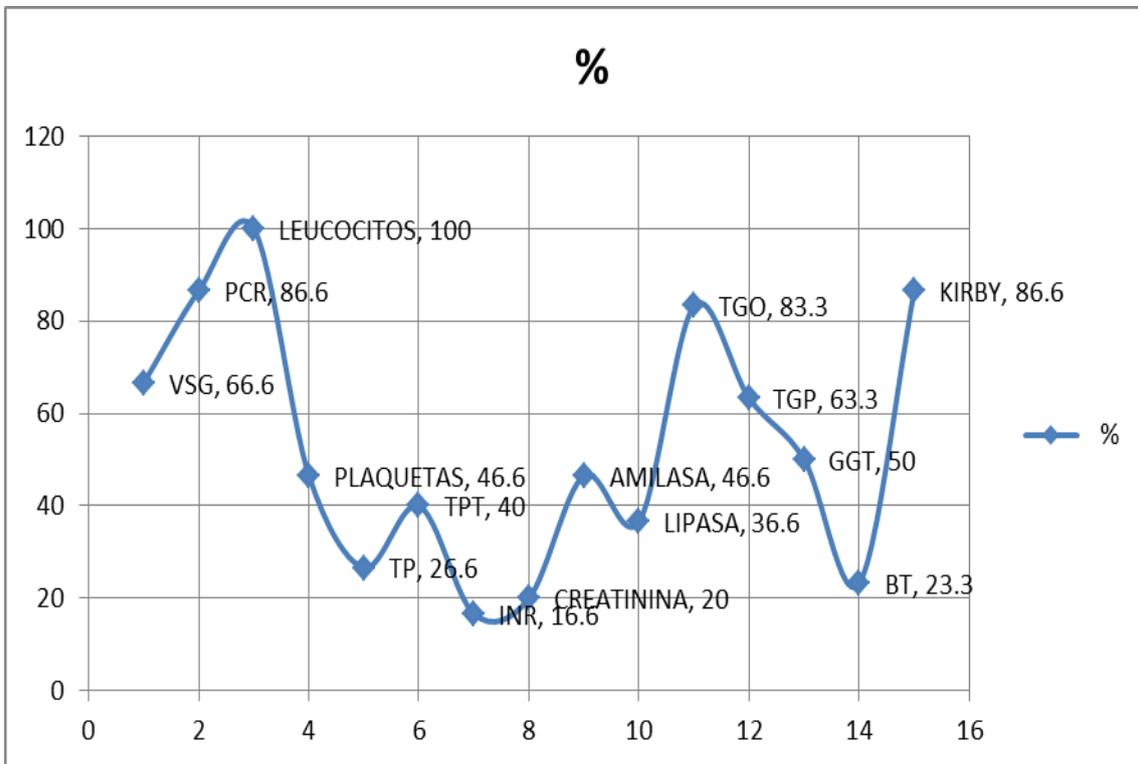
TABLA 11. FRECUENCIA DE MARCADORES BIOQUIMICOS ESTUDIADOS EN LOS PACIENTES INGRESADOS A LA UTIP EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE SEPSIS POR PORCENTAJE

MARCADORES BIOQUIMICOS	PORCENTAJE (%)
VSG > 15 mm/Hr	20 = 66.6 %
PCR > 10 mg/L	26 = 86.6 %
LEUCOCITOS TOTALES > 12 MIL o < 4 MIL	30 = 100 %
PLAQUETAS > 450 mil o < 150 mil	14 = 46.6 %
TP > 12 seg	8 = 26.6 %
TPT > 38 seg	12 = 40 %
INR > 1.2	5 = 16.6 %
CREATININA > 1.5 mg/dL	6 = 20 %
AMILASA < 100 UI/L	14 = 46.6 %
LIPASA < 100 UI/L	11 = 36.6 %
TGO > 35 mg/dL	25 = 83.3 %
TGP > 40 mg/dL	19 = 63.3 %
GGT < 40 mg/dL	15 = 50 %
BILIRRUBINAS TOTALES > 1 mg/dL	7 = 23.3 %
INDICE DE KIRBY: PaO2/ FiO2	26 = 86.6 %

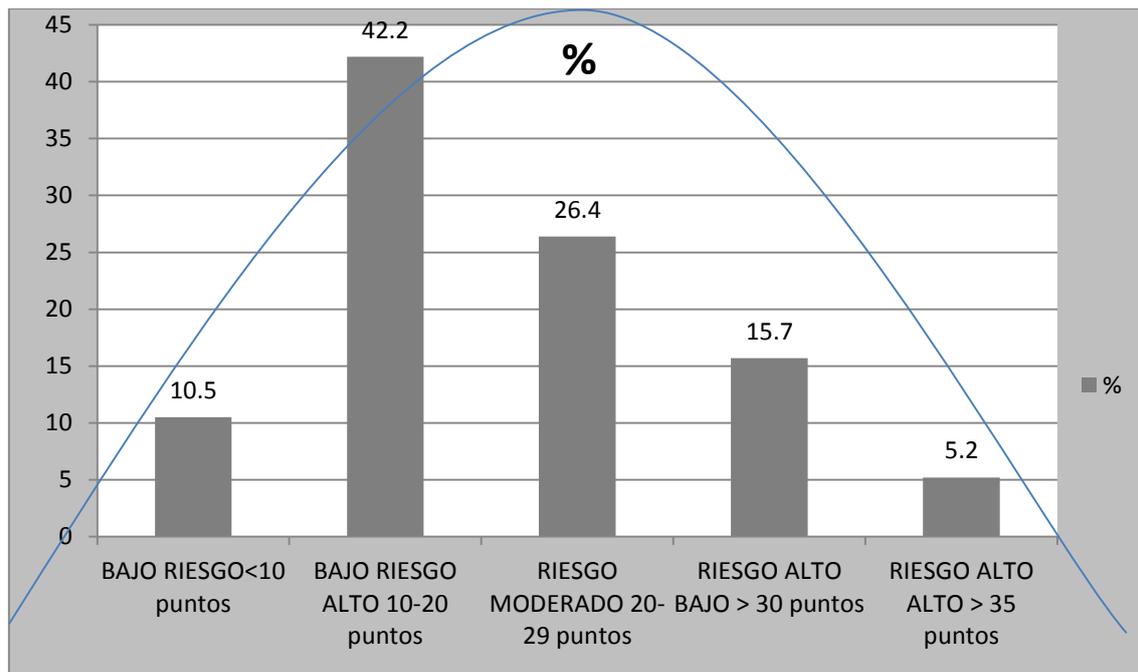
GRAFICA 13. FRECUENCIA DE MARCADORES BIOQUIMICOS ESTUDIADOS EN LOS PACIENTES INGRESADOS A LA UTIP EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE SEPSIS POR PORCENTAJE $F(x)$



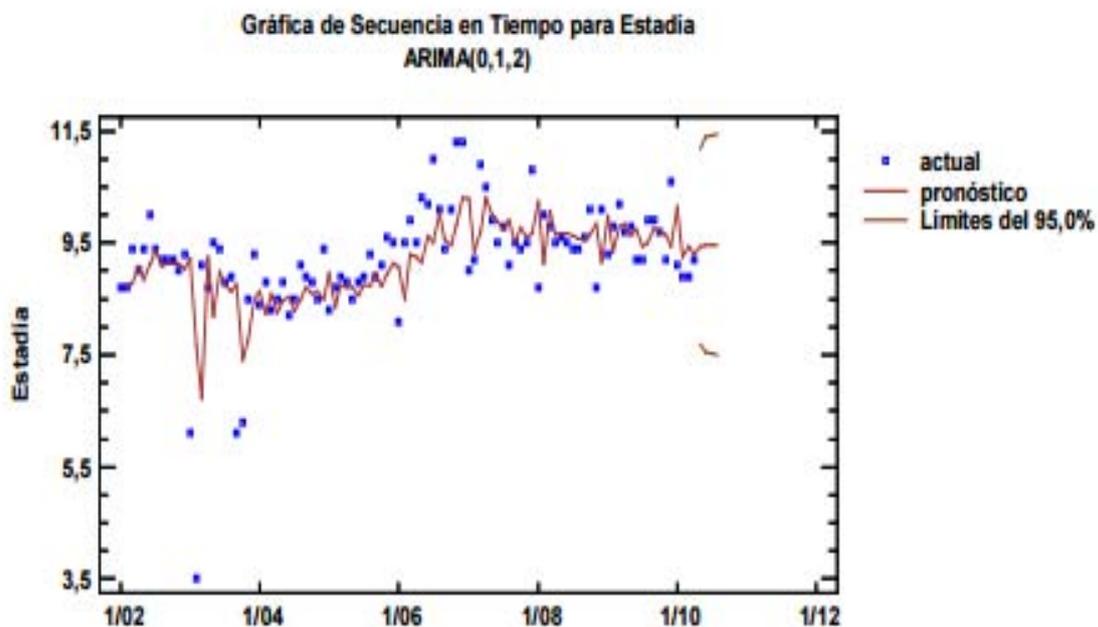
GRAFICA 14. FRECUENCIA DE MARCADORES BIOQUIMICOS ESTUDIADOS EN LOS PACIENTES INGRESADOS A LA UTIP EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE SEPSIS POR PORCENTAJE F(x)



GRAFICA 15. MUESTRA DE T DE STUDENT DEL PORCENTAJE DE PRESENTACION DE LOS FACTORES PREDICTORES DE MORTALIDAD SEGÚN LA ESCALA DE PRISM.



GRAFICA 15. AJUSTE DEL MODELO SELECCIONADO Y PRONOSTICO DE FUTUROS VALORES



FUENTE: RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANALISIS ESTADISTICO APLICADO POR EL PROGRAMA SPSS 9.0. Y SHAHANNON-WIENER.

TABLA 13. INTERVALOS DE CONFIANZA PARA LA FRECUENCIA DE DATOS CLINICOS PRESENTADOS EN LA SEPSIS

DATOS CLINICOS	FRECUENCIA	%	INTERVALOS DE CONFIANZA 95%
GLASGOW	15	73.3	(0.491031-0.770843)
PUPILAS	4	93.3	(0.247078-0.548206)
FC	1	96.6	(0.145204-0.466994)
FR	3	76.6	(0.162311-0.424905)
PAS	1	100	(0.116301-0.403448)
FIEBRE	3	100	(0.165266-0.359612)

TABLA 14. CORRELACION ENTRE LOS MARCADORES BIOQUIMICOS EN EL GENERO Y NIVELES DE COMPARACION

GRUPOS:	MUJERES		HOMBRES		TODOS		ANALISIS ESTADISTICO
	FREC	%	FREC	%	FREC	%	PRUEBA/Z
1	4	13.3	4	13.3	8	26.6	Z=1.52
2	5	15.9	3	10.7	8	26.6	Z=1.52
3	0	0	2	6.6	2	6.6	Z=0.80
4	0	0	1	3.3	1	3.3	Z=0.46
5	3	8.9	1	4.4	4	13.3	Z=0.86
6	4	17.7	3	5.9	7	23.3	Z=1.34

TABLA 5. ANALISIS ESTADISTICO POR GRUPOS PROBLEMA

GPO.PROB	MUJERES		HOMBRES		TODOS		ANALISIS ESTADISTICO
	FREC	%	FREC	%	FREC	%	Ji cuadrada
Gpo.1	4	13.3	4	13.3	8	26.6	46.98
Gpo.2	5	15.9	3	10.7	8	26.6	46.98
Gpo.3	0	0	2	6.6	2	6.6	12.62
Gpo.4	0	0	1	3.3	1	3.3	6.43
Gpo.5	3	8.9	1	4.4	4	13.3	14.56
Gpo.6	4	17.7	3	5.9	7	23.3	40.18

XV. ANEXO 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Asociación del Polimorfismo Genético: Factor de Necrosis Tumoral Alfa en su variedad -308GA en pacientes pediátricos en sus escenarios de sepsis, choque séptico y falla orgánica múltiple ingresados a la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica

NOMBRE _____ EDAD: _____

DIAGNOSTICOS DE INGRESO _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACION MEDICA

Título de la Investigación: "Asociación del Polimorfismo Genético: Factor de Necrosis Tumoral Alfa en su variedad -308GA en pacientes pediátricos en sus escenarios de sepsis, choque séptico y falla orgánica múltiple ingresados a la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica"

"

GRUPOS PROBLEMA POR GRUPO ETARIO MUJER _____ HOMBRE _____

1	2	3	3	5	6
---	---	---	---	---	---

MEDICION DE LOS ESTADIOS DE LA SEPSIS

	NOV	DIC	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	TOTAL
SEPSIS								
CHOQUE SEPTICO								
FALLA ORGANICA MULTIPLE								
TOTAL								

ID Y FECHA DE TOMA DE MUESTRA _____

COMPLICACIONES ESPERADAS _____ NECESIDAD DE USO
 DECRISTALOIDES _____ AB _____ AMINAS _____ VENTILACION
 MECANICA _____ INMUNOMODULADORES _____

NOMBRE Y FIRMA DE PADRE O TUTOR _____

FECHA _____

DISCUSION DE RESULTADOS

Cabe mencionar que de los ingresos a la Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica en el período estudiado de 7 meses ingresaron 52 pacientes de los cuales el 61.5% presentaron algunos de los estadios de sepsis y el 38.5% no presentaron sepsis. A pesar de los esfuerzos terapéuticos empleados todavía no se logra disminuir su porcentaje. La mortalidad fue detectada en 4 pacientes obteniendo predominio del sexo femenino en un 75% y sólo el 25 % de los pacientes del sexo masculino así como los menciona Carcillo en 2003 sustentando el mismo fundamento. (9). También coincide con la presentación de los diferentes estadios de la sepsis en orden de frecuencia sepsis con un 60%, choque séptico 30% y finalmente con Falla Orgánica Múltiple en un 10%. (10). Según Dellinger los sitios de infección más frecuentes son las vías respiratorias bajas, cabe resaltar que el presente trabajo de investigación obtuvimos los mismo resultados también con el orden de frecuencia de pulmón en un 60%, Sistema Nervioso Central 13.3 %, Tubo Digestivo 3.3 %, Renal 6.6%, sin embargo con un porcentaje alto la sepsis sin foco aún predomina en nuestra actualidad con un 16.6%.

La terapéutica empleada en nuestros pacientes fue la misma que describió Dellinger y colaboradores en el 2013 en la última revisión y actualización de la campaña sobreviviendo a la sepsis donde se mencionan cristaloides, antimicrobianos de amplio espectro, aminas vasoactivas, necesidad de Ventilación Mecánica y uso de Inmunomoduladores.

El presente estudio se basó en una muestra de 32 pacientes con diagnóstico en los diferentes estadios de sepsis en la edad pediátrica de los cuales 2 fueron excluidos por no contar con criterios de inclusión, quedando sólo 30 pacientes para el estudio, sin contar con predominio de sexo ambos fueron del (50%) (grafica3). Siendo el mes de febrero del 2015 de mayores ingresos a la UTIP. Se agrupó a la muestra en seis grupos etarios: Grupo 1. 2 meses a los 6 meses, Grupo 2. 7 meses a los 12 meses, Grupo 3. 1 año a los 2 años 11 meses, Grupo 4. 3 años – 5 años 11 meses, Grupo 5. 6 años a 9 años 11 meses y Grupo 6. 10 años a los 17 años 11 meses donde se buscó la distribución por género. La edad promedio y con más ingresos fueron en menores de 12 meses, debido a la falta de producción de defensas a esta edad siendo el grupo más susceptible a este tipo de escenarios estudiados en esta investigación.

La extrapolación a la población bajo estudio de la frecuencia con la que la variable grafica fue ejecutada se llevo acabo empleando intervalos de confianza (IC del 95%), estos están concentrados en la Tabla 13. La correlación de la frecuencia de acuerdo al grupo etario y género para la prueba Z de análisis estadístico reunidos en la Tabla 14. La frecuencia por género y expresión genética para el polimorfismo estudiado se encuentra en la Tabla 9 donde se muestra que es predominante en el sexo femenino con un 50% a comparación con el sexo masculino con 49 %, de los cuales la expresión génica más encontrada fue la heterocigota con predominio en ambos sexos: femenino 35% y del sexo masculino 24.5%. Encontrándose que la expresión genética heterocigota fué las más frecuentes y la única que proporcione estadísticamente significancia a favor del género femenino ($Z=1.52$). Los otros grupos problema no demostraron significancia alguna. El análisis estadístico se realizó con los programas SPSS 9.0, además Shahannon-Wiener, empleándose el test de la t de Student para muestras pareadas, cuyas diferencias fueron significativas para los valores de $p < 0,05$. Se compararon los factores predictores de mortalidad como la escala de PRISM y la puntuación para su clasificación además se compararon con el tiempo de seguimiento

CONCLUSIONES

Gracias a los resultados de extracción y purificación del ADN se asoció el polimorfismo FNT alfa en su variedad -308 A/G a casi todos los pacientes estudiados, confirmando lo redactado en la literatura en medicina genómica, ésta expresión génica hace más susceptible a la población a padecer sepsis en todas sus fases, como ya se comentó en líneas anteriores la predisposición a los heterocigotos a comparación de los homocigotos, siendo más frecuente en todas las variables estudiadas la predominancia del sexo femenino tanto en la mortalidad como en sus fases más sombrías de la sepsis. También se asocia que el sitio de infección más frecuente de sepsis es el pulmón con un 60%. Así como la fase de sepsis en la alta con un 60% a comparación de choque séptico en un 30% y falla orgánica múltiple en un 10%. Se compararon resultados genéticos con datos clínicos estudiados, marcadores bioquímicos y factores de predictores de mortalidad. El conocimiento del Genoma Humano es el futuro de la Inmunogenética, Farmacogenética y Farmacogenómica haciéndonos identificar y relacionar bases moleculares para modificar la respuesta a la terapéutica empleada y si es necesario en un futuro espero no muy lejano hasta la manipulación de los ácidos nucleicos para evitar enfermedades mortales e Identificar nuevas dianas terapéuticas.

- Se confirmó las variaciones genéticas que predicen la sepsis.
- Que existen muchas variantes genéticas, en especial los SNPs “Single nucleotide polimorfismo” que nos obligan a conocer y predecir a través del tiempo para evitar sufrimiento en nuestros pacientes y prever complicaciones que los lleven a la muerte.
- La aparición de nuevas tecnologías nos ayudan a disminuir el tiempo de Respuesta en los resultados esperados; realizar varios Polimorfismos simultáneamente.
- Con el punto anterior podremos reducir costes.
- Evitamos la administración de terapia ineficaz o que produzca efectos secundarios en el paciente.

Queda la puerta abierta para futuras investigaciones



BIBLIOGRAFIA

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001; 29: 1303-1310.
2. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hours in intensive care units in England, Wales and Northern Ireland. *Crit Care Med.* 2003; 31: 2332-2338.
3. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 2003; 348: 1546-1554.
4. Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B; EPISEPSIS Study Group. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med.* 2004; 30: 580-588.
5. Annane D, Aegerter P, Jars-Guinestre MC, Guidet B, for the CUB-Réa Network. Current epidemiology of septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 168: 165-172.
6. Kutko MC, Calarco MP, Flaherty MB, Helmrich RF, Ushay HM, Pon S, et al. Mortality rates in pediatric septic shock with and without multiple organ system failure. *Pediatr Crit Care Med.* 2003; 4: 333-337.
7. Robles Alarcón, J. F, ed. *Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple en Pediatría.* Editorial Prado, México, 2003.
8. Proulx F, Fayon M, Farrell CA, Lacroix J, Gauthier M. Epidemiology of sepsis and multiple organ dysfunction syndrome in children. *Chest.* 1996; 109: 1033-1037.
9. Carcillo J. Pediatric septic shock and multiple organ failure. *Crit Care Clin.* 2003; 19: 413-440.
10. Carcillo JA, Fields AI, Task Force Committee members. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal patients in septic shock. *Crit Care Med.* 2002; 30(3): 1365-78.
11. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, et al. Surviving Sepsis Campaign Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock. *Intensive Care Med.* 2014; 30: 536-555.
12. Sackett DL. Rules of evidence and clinical recommendations on the use of antithrombotic agents. *Chest.* 1989; 95: 2S-4S.
13. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, and Members of the International Consensus Conference Panel: International Pediatric Sepsis Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med.* 2005; 6:2-8
14. Levy M. Shock séptico. *Crit Care Med.* 2003; 31(4): 1-2.
15. Dellinger RP. Criterios diagnósticos de sepsis. *Critical Care Med* [Internet]. 2013 [citado 7 Feb 2013]; 41(2): [aprox. 4 p.]. Disponible en: <http://www.sccm.org/Documents/SSCGuidelines.pdf>
16. American College of Chest Physicians; Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failures and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992; 20:864-874

17. Levy MM, Fink JC, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Crit Care Med.* 2003;31:1250-6.
18. Bone RC. Sepsis, the sepsis syndrome, multi-organ failure: a plea for comparable definitions. *Ann Intern Med.* 1991;114(4):332-3.
19. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med.* 2005;6(1):2-8.
20. Fischer J, Fanconi S. Systemic inflammatory response syndrome (SRIS). *Crit Care Med.* 1997;(24):239-54.
21. Fiser R, Darville T. Systemic inflammatory response syndrome. En: Levin DL. *Essential of pediatric intensive care.* 2 ed. New York: Churchill Livingstone; 1997. p. 266-79.
22. Brahm Goldstein MD, Brett Giroir MD, Adrienne Randolph MD, and the members of the International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med.* 2005;6(1):2-6.
23. Nelson WE, Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM. *Tratado de pediatría.* 15 ed. Madrid: Mc Graw-Hill Interamericana; 1997. p. 881-4.
24. Paganini HR. Tratamiento de la sepsis en pediatría: ¿qué debemos hacer? *Arch Argent Pediatr.* 2003;101(5):406-14.
25. World Health Organization. *The World Health report 2004.* Geneva: WHO; 2004.
26. Paganini HR. *The World Health report 2006.* Geneva: WHO; 2006.
27. Manzano JL, Manzano JJ, Medina D. Sock séptico (I). *Fisiopatología, monitorización.* *Med Clin (Barc).* 1993;100(7):266-74.
28. R. Phillip Dellinger, MD1; Mitchell M. Levy, MD2; Andrew Rhodes et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock 2012. *Intensive Care Med* 2013; Feb; 39(2):165-228.
29. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29: 1303-1310.
30. Muriel A, Blanco J, Sagredo V, Taboada F, Gandía F et al . Incidence, organ failure and mortality of severe sepsis. Results of a Spanish multicenter study. *Intensive Care. Medicine* 2004; 30 Supplement 1: S46.
31. Giuliano KK et al. Impact of protocol watch on compliance with the surviving sepsis campaign. *Am J Crit Care* 2011. Nov; 20 (6):424-5.
32. Marshall JC, Charbonney E, Gonzalez PD. The immune system in critical illness. *Clin Chest Med.* 2008 Dec;29 (4):605-16.
33. Opal SM. Immunologic alterations and the pathogenesis of organ failure in the ICU. *Semin Respir Crit Care Med.* 2011 Oct;32(5):569-80.