

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Facultad de Medicina**



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**DELEGACIÓN SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO**

**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI**

**“EXPRESIÓN DE LOX-1 EN FAGOCITOS CIRCULANTES DE  
PACIENTES CON SEPSIS”**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA EN  
ESPECIALIDAD EN MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA**

**DRA. BERENICE GONZALEZ FLORES**

**TUTOR PRINCIPAL**

**DRA. en C. LOURDES ANDREA ARRIAGA PIZANO**



**CIUDAD DE MÉXICO**

**FEBRERO 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**“EXPRESIÓN DE LOX-1 EN FAGOCITOS CIRCULANTES DE PACIENTES  
CON SEPSIS”**

**HOJA DE FIRMAS**

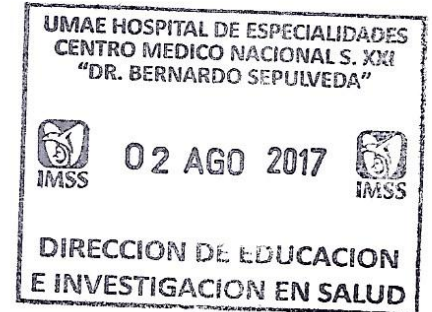


DOCTORA

DIANA GRACIELA MENEZ DIAZ

JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD

UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXX



DOCTORA

MARIA EUGENIA GALVAN PLATA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN MEDICINA  
INTERNA

MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI



DOCTORA EN CIENCIAS

LOURDES ANDREA ARRIAGA PIZANO

INVESTIGADOR ASOCIADO D.

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN INMUNOQUÍMICA.

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3601** con número de registro **17 CI 09 015 034** ante COFEPRIS  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA **29/05/2017**

**DRA. LOURDES ANDREA ARRIAGA PIZANO**

**P R E S E N T E**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**Expresión de LOX-1 en fagocitos circulantes de pacientes con sepsis**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

<b>Núm. de Registro</b>
<b>R-2017-3601-95</b>

ATENTAMENTE

**DR.(A). CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA**

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**DELEGACION SUR DEL DISTRITO FEDERAL**  
**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**  
**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN INMUNOQUÍMICA**  
**SERVICIO DE MEDICINA INTERNA**

**“EXPRESIÓN DE LOX-1 EN FAGOCITOS CIRCULANTES DE PACIENTES  
CON SEPSIS”**

**INVESTIGADOR RESPONSABLE**

Dra. Lourdes Andrea Arriaga Pizano  
Investigador Asociado D.  
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.  
Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
330 Col. Doctores C.P. 06020. México D.F.  
Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.  
Fax 56-27-69-15  
landapi@hotmail.com

**COLABORADORES**

Dra. María Eugenia Galván Plata  
Servicio de Medicina Interna  
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
Tel: 56276900 ext. 21909  
Correo electrónico: mgalvanplata@prodigy.net.mx

Dr. Armando Isibasi Araujo.  
Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica  
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
Tel: 56 276900 ext. 21476  
Correo electrónico: isibasi@prodigy.net.mx

Dr. Eduardo Ferat Osorio  
Investigador Asociado A. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica  
y Médico adscrito al Servicio de Gastrocirugía.  
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
Tel: 56 276900 ext. 21476  
Correo electrónico: eduardoferat@prodigy.net.mx

Dr. Juan Carlos Anda  
Jefe de Servicio  
Servicio de Medicina Interna  
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
Tel: 56276900 ext. 21909  
Correo electrónico: estumed@hotmail.com

Dr. Constantino III Roberto López Macías  
Investigador Titular D. Unidad de Investigación Médica en Inmunología.  
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
Tel: 56 276900 ext. 21476  
Correo electrónico: constantino@sminmunologia.org ;  
constantino.lopez@imss.gob.mx

## ESTUDIANTES

Dra. Berenice González Flores  
Médico Residente de Cuarto Año Medicina Interna  
Hospital de Especialidades del CMN SXXI  
Especialidad: Medicina Interna  
Tel: 56 276900 ext. 21544  
Correo electrónico: bgonzalezflores@hotmail.com

M. en C. Patricia Esther Miranda Cruz  
Estudiante del programa de Doctorado en Ciencias en la Especialidad de  
Biología Celular, Cinvestav-IPN  
Becario IMSS, Unidad de Investigación Médica en Inmunología.  
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
Tel: 56 276900 ext. 21476  
Correo electrónico: patriciae.mirandac@gmail.com ; paty-kmila@hotmail.com

M. en C. Luis Angel Flores Mejía  
Estudiante de Doctorado en Ciencias Biomédicas  
Sede Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Unidad de Investigación Médica en Inmunología.  
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.  
Tel: 56 276900 ext. 21476  
Correo electrónico: anjl\_72@hotmail.com

## AGRADECIMIENTOS

*“Aprender nunca cansa la mente.”*

Leonardo da Vinci

Paty y Luis Angel. Ustedes son los que se merecen el crédito de este trabajo. El mundo de la ciencia es mejor por tener a gente tan brillante como ustedes formando parte de él. Gracias mil veces.

Doctora Lulú Arriaga. Fue buena suerte elegir entrar a esa parte misteriosa del Hospital que me abrió tantas puertas, tantas posibilidades, y tanto conocimiento. Gracias por todo el apoyo y toda la paciencia.

Gracias a mis maestros a lo largo de los últimos 4 años. En cada paso he tenido modelos incomparables de compromiso, sabiduría, temple, y profesionalismo. Siempre de la mano con humanidad y humildad. Imposible nombrarlos a todos; solo puedo decir que son los que han contribuido en gran parte a quien soy.

A los que me han acompañado estos cuatro años. Mis hermanos mapaches, y mis amigos en estos últimos años. Se merecen más que un párrafo en una tesis. Se merecen todo lo bueno que la vida tenga para dar. Formaron parte de mi historia por casualidad y formarán parte de mi futuro por elección.

Vicky y Félix. Son mi aire. Gracias siempre por todo y por tanto.

## INDICE

1. Resumen	9
2. Marco teórico	10
3. Justificación	14
4. Planteamiento del problema	14
5. Objetivos	14
6. Hipótesis	14
7. Material y Métodos	15
a. Tipo de estudio	15
b. Universo de trabajo	15
c. Criterios de selección	15
d. Cálculo del tamaño de muestra	16
e. Selección de la muestra	16
f. Descripción de variables según metodología	16
g. Procedimiento general	18
h. Análisis estadístico	18
i. Aspectos éticos	19
j. Recursos, financiamiento y factibilidad	20
8. Resultados	22
9. Discusión	25
10. Conclusión	26
11. Bibliografía	27
12. Anexos	29



<b>Datos del alumno</b>	
Apellido paterno:	González
Apellido materno:	Flores
Nombre:	Berenice
Teléfono:	55.2770.7367
Universidad:	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad:	Medicina.
Especialidad:	Especialista en Medicina (Medicina Interna)
No. de cuenta:	514215037
<b>Datos del asesor</b>	
Apellido paterno:	Arriaga
Apellido materno:	Pizano
Nombre:	Lourdes Andrea
<b>Datos de la tesis</b>	
Título:	Expresión de LOX-1 en fagocitos circulantes en pacientes con sepsis
No. de páginas:	34
Año:	2018
Número de registro:	R-2017-3601-95

## RESUMEN

La sepsis representa un grave problema de salud hospitalaria al encontrarse entre las primeras causas de mortalidad en las unidades de cuidados intensivos de todo el mundo. Se define como un procesos severo y agudo de inflamación sistémica que involucra la activación descontrolada de leucocitos, endotelio, cascadas de coagulación y complemento. La liberación masiva de citocinas y sobreexpresión de moléculas de adhesión por leucocitos y células endoteliales se acompaña por una disminución en las capacidades funcionales del sistema inmunológico. Así, por ejemplo, se ha reportado que disminuye la capacidad de eliminación de bacterias. Aunque asociada con formas inmaduras de los neutrófilos en circulación (bandemia), esta disminución en la capacidad fagocítica no se ha explicado completamente en los pacientes con sepsis.

LOX-1, receptor de lipoproteínas oxidadas, es una proteína transmembranal que se ha identificado como un claro inductor y potenciador en la generación de las placas ateroscleróticas. Se sabe que citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , proteínas C reactiva y LPS pueden inducir la expresión de LOX-1 en células endoteliales, macrófagos e incluso neutrófilos. De allí que se ha explorado su participación en otras patologías como hipertensión, diabetes y sepsis. En modelos animales de sepsis, el bloqueo de LOX-1 evita la adhesión a vasos sanguíneos de leucocitos y disminuye el potencial de migración hacia tejidos. Y aunque en modelos murinos es capaz de inducir la activación de NF- $\kappa$ B en neutrófilos, e inducir la producción de citocinas proinflamatorias, en estos ratones se encuentra comprometida la capacidad de eliminación de bacterias, tanto en circulación como en peritoneo y pulmón. Al momento se ignora si LOX-1 se expresa en pacientes con sepsis y si esto tiene alguna relación con el desarrollo de la sepsis y/o disfunción de fagocitos.

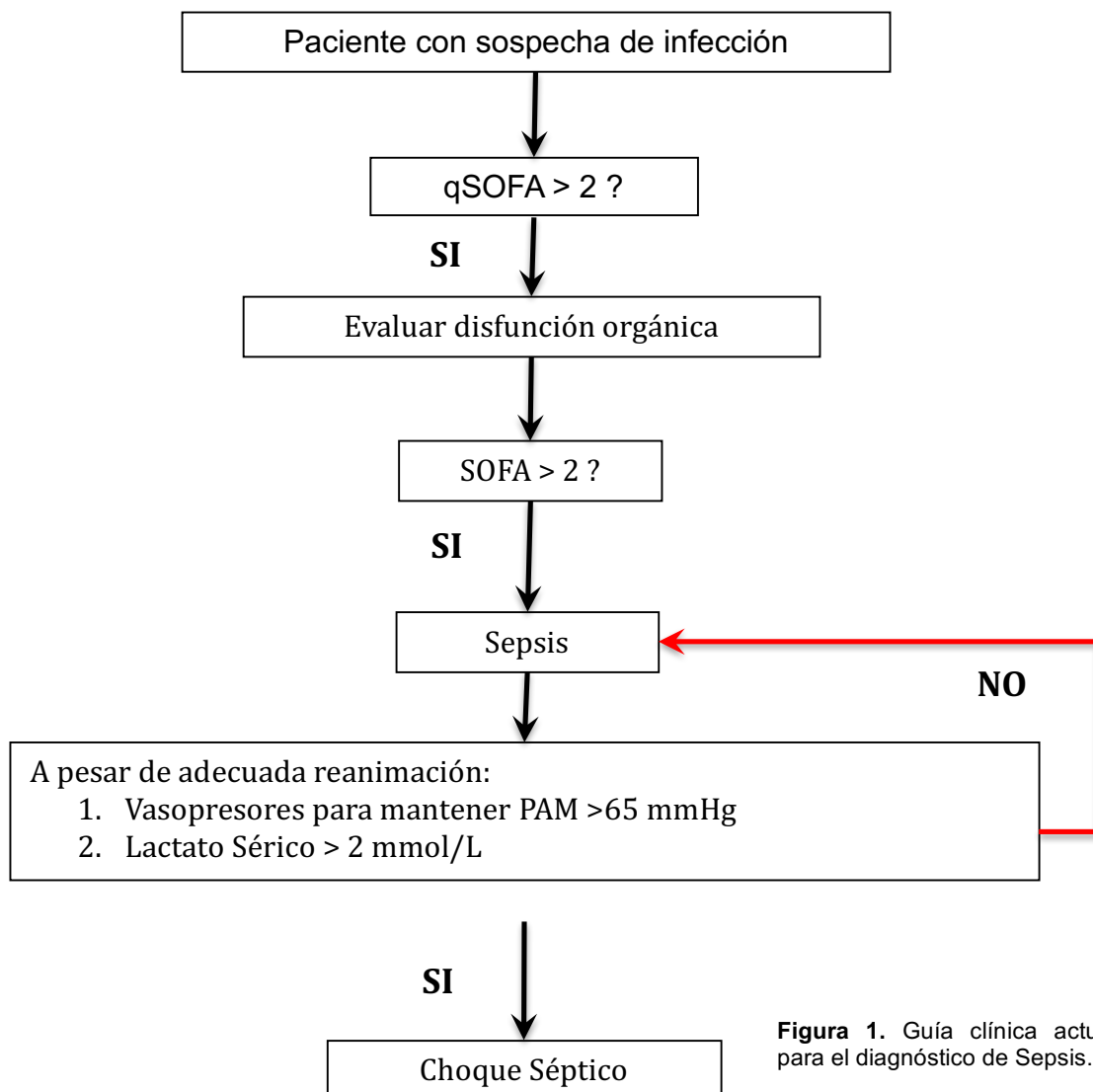
El objetivo del presente trabajo fue determinar la expresión de LOX-1 en neutrófilos y monocitos de pacientes con sepsis, así como determinar si esta expresión se asocia con la severidad o pronóstico de los mismos. Para ello se realizó una toma de muestra sanguínea por venopunción humeral en pacientes con y sin proceso séptico. La sangre se colectó en un tubo con heparina como anticoagulante para determinar la expresión de LOX-1 en la membrana de monocitos (CD45<sup>med</sup> CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-/+</sup>) o neutrófilos (CD45<sup>lo</sup>CD16<sup>++</sup>CD14<sup>-</sup>), los principales fagocitos en sangre. Utilizando pruebas de correlación bivariada se estableció si la expresión de LOX-1 en fagocitos circulantes se relaciona con la severidad o desenlace del proceso séptico. En los pacientes con sepsis (n=11), respecto a sujetos sanos(n=10) observamos una disminución significativa en la expresión de LOX-1 en neutrófilos circulantes. En un estado de hiperoxidación, como lo es la sepsis, la disminución de la expresión de LOX-1 en neutrófilos, podría estar involucrada en la contención el daño.

## MARCO TEÓRICO

### Sepsis

La sepsis se define como una disfunción orgánica que amenaza la vida ocasionada por una respuesta desbalanceada del huésped a una infección. Esto sugiere que una alteración del sistema inmune o alteraciones bioquímicas subyacentes propician el daño orgánico en presencia de un proceso infeccioso<sup>1</sup>.

En el consenso de 2016 se hicieron modificaciones a la definición de sepsis, con la desaparición del SIRS y la inclusión de la escala de valoración secuencial de falla orgánica o SOFA (por *Sequential Organ Failure Assessment*) como uno de los criterios para el diagnóstico y pronóstico de sepsis. De acuerdo a su gravedad, se clasifica en sepsis, caracterizada por la presencia de disfunción orgánica (SOFA  $\geq 2$ ) y en choque séptico, una condición en la que persiste la hipotensión y la elevación de lactato a pesar de una adecuada reanimación hídrica<sup>2</sup>. Se eliminó el término de sepsis severa y se incluyeron los criterios de quick SOFA (qSOFA) (**Figura 1**). Esta



**Figura 1.** Guía clínica actual para el diagnóstico de Sepsis.

última escala es utilizada como herramienta para evaluar la posible falla orgánica o la presencia de infección en pacientes en los que no se habían identificado, esto de manera más rápida que la escala de SOFA; por no requerir determinaciones de laboratorio; todo esto con el objetivo de facilitar la comprensión por parte del personal clínico del concepto de sepsis y la rápida identificación de los pacientes con sepsis para el inicio temprano de las terapias de soporte y reducción de la mortalidad<sup>1,2</sup>.

La mortalidad de SIRS/sepsis sigue siendo muy alta (del 40 al 80%)<sup>5</sup>, siendo la principal causa de muerte en las unidades de cuidados intensivos y en las salas de hospitalización de nuestro entorno, lo que también representa elevados costos en el cuidado de estos pacientes.<sup>5</sup>

### *Proceso inflamatorio y estrés celular en sepsis*

La respuesta inflamatoria en el proceso de sepsis se propone es una respuesta bifásica, con una fase de activación desproporcionada del sistema inmune (fase pro-inflamatoria) caracterizada por la presencia de fiebre, el incremento del catabolismo, cambios en la expresión de moléculas de activación en las células (CCR7, CD69, HLA-DR y la liberación descontrolada y sistémica de interleucinas y quimiocinas pro-inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 e IL-8)<sup>11</sup> y una fase anti-inflamatoria a la cual se le relaciona con un estado de "inmunosupresión" del paciente que se caracteriza por la secreción de interleucinas anti-inflamatorias como IL-10 y TGF- $\beta$  así como una baja expresión de la molécula de histocompatibilidad de clase II o HLA-DR (por Human Leukocyte Antigen-DR), principalmente en los monocitos de circulación<sup>3,4</sup>.

Existe múltiples estudios que demuestran que la elevación de ciertos biomarcadores de activación endotelial (sFlt-1, PAI-1, sICAM-1, sVCAM-1 entre otros) se asocian a la severidad de un proceso séptico, a la mortalidad y al grado de disfunción orgánica<sup>5</sup>.

En los leucocitos circulantes se han reportado alteraciones debido al ambiente inflamatorio desregulado de SIRS/sepsis, tanto en número como en la expresión de diversas moléculas asociadas con activación. Además de la leucocitosis o leucopenia, que junto la bandemia (que representa incremento de las formas inmaduras de leucocitos en circulación) forman parte de los signos para el diagnóstico de SIRS/sepsis, se modifican en los leucocitos de estos pacientes varias moléculas de activación. Así, la expresión del receptor de inmunoglobulina G de alta afinidad ó CD64 se eleva en neutrófilos de pacientes con sepsis<sup>6</sup>. Además de alteraciones en el número y la expresión de receptores, diversos grupos de estudio han reportado alteraciones en procesos como la fagocitosis, observando en algunos casos aumento en dicho proceso en pacientes sépticos<sup>7,8</sup>, o disminución en tanto en la internalización como en la eliminación bacteriana<sup>9</sup>, sin embargo no se ha explorado el mecanismo involucrado en dichas alteraciones que se encuentran en los pacientes.

### *Receptor LOX-1*

LOX-1 (por *Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1*) es una glicoproteína integral de membrana tipo II que pertenece a la familia de las lectinas tipo C. Es el principal receptor para las lipoproteínas oxidadas (OxLDL) en las células endoteliales, en las cuales induce la expresión de moléculas de adhesión como E-selectina, P-selectina y V-CAM, que favorece la extravasación de leucocitos circulantes<sup>10</sup>.

La expresión de LOX-1 en células endoteliales es inducida, entre otros estímulos, por las OxLDL con lo que pueden activar las vías de las cinasas dependientes de mitógeno o MAPK (por *Mitogen Activated Protein Kinase*) e inducir la expresión de quimiocinas para monocitos y neutrófilos como MCP-1, IL-8, CXCL2 y CXCL3<sup>11</sup>. Así también se ha descrito que LOX-1 activa al Factor Nuclear  $\kappa$ B o NF- $\kappa$ B, que se sabe puede inducir la expresión de citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ <sup>12</sup>. Esto se ha propuesto que favorece el ambiente inflamatorio que se asocia con la deposición de lípidos en aterosclerosis. El papel fundamental de LOX-1 en la formación de las placas ateroscleróticas se sustenta también en el hecho que LOX-1 induce la formación de células espumosas al activar a macrófagos y células musculares de la íntima vascular<sup>13</sup>.

LOX-1 como inductor de disfunción endotelial se ha involucrado, además de aterosclerosis, en otras patologías como hipertensión y diabetes, lo cual correlaciona con que estímulos relacionados con estrés celular, como son la hiperglicemia y los radicales libres, inducen la expresión de LOX-1<sup>12</sup>. Se ha descrito que moléculas pro-inflamatorias como lipopolisacárido, TNF- $\alpha$ <sup>14</sup>, interleucina-1 (IL-1), interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) y proteína C reactiva (CRP) pueden ser reconocidos por LOX-1<sup>15,16</sup>.

LOX-1 expresado en la superficie celular puede ser escindido proteolíticamente y liberado en una forma soluble (sLOX-1) en la circulación en condiciones patológicas, tales como: síndrome coronario agudo, obesidad y diabetes mellitus tipo 2.

### *LOX-1 y sepsis*

Existen evidencias que relacionan a LOX-1 con inflamación sistémica, ya que se ha observado que la inhibición de LOX-1 en un modelo de endotoxemia en rata reduce la adherencia de leucocitos en microcirculación intestinal, observando además que al inhibir LOX-1, los niveles plasmáticos de MCP-1 disminuyen<sup>17</sup>.

Por otra parte, en modelos de ratón que no expresan LOX-1 (ratones con fondo genético C57/BL6 "knockout" para LOX-1), se observó que la sobrevivencia de dichos ratones sometidos a sepsis polimicrobiana (por ligadura y punción cecal) incrementa. La disminución en la mortalidad se relacionó con la disminución de los niveles séricos y pulmonares tanto de TNF- $\alpha$  como IL-6, y una mayor capacidad de migración de neutrófilos. Sin embargo, también observaron la disminución en la capacidad de eliminación bacteriana, lo que

sugiere que LOX-1 puede estar involucrada en la disfuncionalidad de los neutrófilos observada en sepsis<sup>18</sup>. Hasta el momento no existen reportes sobre la expresión de LOX-1 en humanos y si esta expresión se relaciona en pacientes con sepsis con alteraciones funcionales.

## JUSTIFICACIÓN

La sepsis y la endotoxemia son estados pro-oxidantes, en los que además existe activación de leucocitos, disfunción endotelial y activación de las cascadas de coagulación. Dado que la expresión de LOX-1 puede incrementarse por Ox-LDL, así como LOX-1 medía la producción de citocinas proinflamatorias, es claro el papel que en el desbalance oxidativo de la sepsis tiene LOX-1. Sin embargo al momento se ignora si la expresión de LOX-1 en neutrófilos y/o monocitos se incrementa en pacientes con sepsis y si esto se relaciona con alteraciones funcionales en los mismos y con la evolución de la sepsis.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿LOX-1 se expresa en neutrófilos y monocitos de pacientes con sepsis asociándose con mayor severidad del proceso séptico?

## OBJETIVOS

*Objetivo general:*

Determinar la expresión de LOX-1 en monocitos y neutrófilos de voluntarios sanos y pacientes con sepsis.

*Objetivos específicos:*

1. Determinar la expresión de LOX-1 en monocitos y neutrófilos circulantes de voluntarios sanos y pacientes con sepsis
2. Establecer la correlación entre la expresión de LOX-1 en monocitos y/o neutrófilos con la severidad de la enfermedad en los pacientes con sepsis.

## HIPÓTESIS

*Hipótesis nula (H0):*

En los pacientes con sepsis que se atienden en la UMAE Hospital de Especialidades del CMN "Siglo XXI", en comparación con sujetos sanos, se incrementa la expresión de LOX-1 y este incremento se corresponde con mayor severidad de la sepsis.

### *Hipótesis alternativa (H1):*

La expresión de LOX-1 en neutrófilos y/o monocitos no se incrementa en los sujetos con sepsis y no se relaciona con la severidad de la enfermedad.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### *a. TIPO DE ESTUDIO*

Transversal, prospectivo, observacional.

### *b. UNIVERSO DE TRABAJO*

Pacientes con diagnóstico de sepsis en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, en un período de 12 meses.

### *c. CRITERIOS DE SELECCIÓN*

#### *Criterios de inclusión generales*

- Género indistinto.
- Contar con expediente clínico del paciente para revisión.
- Que acepten participar en la investigación y que firmen el consentimiento informado respectivo.
- Pacientes adultos, mayores de 18 años y menores de 60 años.

#### *Criterios de inclusión de pacientes con sepsis*

- Pacientes hospitalizados en el Centro Médico Nacional Siglo XXI a cargo de Medicina Interna o valorados por Interconsultas.
- Pacientes que cumplan criterios de sepsis

#### *Criterios de inclusión de voluntarios sanos*

- Pacientes atendidos en la consulta externa del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

#### *Criterios de no inclusión generales:*

- Tener diagnóstico previo de hepatopatías.
- Tener diagnóstico de enfermedades autoinmunes o crónico degenerativas.



- Pacientes que estén en tratamiento con inmunomoduladores o inmunosupresores.
- Embarazo.
- No contar con expediente clínico para revisión.
- No aceptar participar en el estudio vía firma del consentimiento informado.

*Criterios de no inclusión de pacientes con sepsis:*

- Pacientes con choque séptico.
- Pacientes con sangrado activo.

*Criterios de no inclusión de voluntarios sanos:*

- Pacientes con complicaciones micro y macro-vasculares secundarias a la enfermedad crónica.

*Criterios de Eliminación:*

- Pacientes cuya muestra no pueda ser procesada.
- Pacientes que decidan retirarse del estudio.

*d. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA*

No existen estudios previos al respecto en humanos, por lo que se considera un estudio piloto. Se reclutaron 10 pacientes por grupo y con los datos obtenidos se calculará el poder de la misma para determinar si se requiere o no ampliar el grupo.

*e. SELECCIÓN DE LA MUESTRA*

*Técnica de muestreo:* No probabilístico. *Tipo de población:* infinita sin reemplazo. Dado que se trata de un estudio piloto experimental. Durante un período de 12 meses, se incluyeron pacientes con: 1) diagnóstico de sepsis ingresados al Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, que reunían los criterios de inclusión y que tuvieran proceso séptico activo y 2) Voluntarios sanos sin enfermedades crónico-degenerativas y sin proceso séptico atendidos en la consulta externa del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

*f. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES SEGÚN METODOLOGÍA*

- Variable independiente: Evolución de la Sepsis

- Variables dependientes: Expresión del receptor LOX-1 en neutrófilos y monocitos circulantes.
- Variable confusora: Niveles séricos de sLOX-1

### *Definición operacional de las variables*

**Sepsis:** Variable independiente que se define como síndrome clínico caracterizado por la presencia de inflamación sistémica (SIRS), falla de al menos un órgano e infección. Definida actualmente como disfunción orgánica causada por una respuesta ante la infección desregulada y presentan una variación de 2 ó más puntos en la escala SOFA (Sequential [Sepsis-Related] Organ Failure Assessment).

**Inmunofenotipo:** Variable dependiente cualitativa nominal que se define como el conjunto de moléculas de superficie o intracelulares que identifican y caracterizan células para establecer el estado de activación y/o maduración celular. En este caso aplicado a identificar a monocitos y neutrófilos.

**Género:** Variable dicotómica que se refiere a los conceptos sociales de las funciones, comportamientos, actividades y atributos que cada sociedad considera apropiados para los hombres y las mujeres. Una de las dos alternativas que produce el sexo. Manera en la que una persona ejerce su sexualidad.

**Edad:** Variable categórica nominal que se define como la cantidad de años que transcurren desde el nacimiento. Tiempo en años vividos a partir del nacimiento.

**LOX-1 de membrana:** Variable dependiente cualitativa que corresponde a una glicoproteína transmembranal de 76 KDa. Se expresa en células endoteliales, musculares, plaquetas y leucocitos ante estímulos como lípidos oxidados, citocinas, LPS o Proteína C reactiva. Al unirse a lipoproteínas oxidadas induce la expresión en endotelio de moléculas de adhesión y favorece la proliferación de células musculares. En leucocitos aparentemente puede inducir la activación de NF-κB y de p38, lo que puede favorecer la producción de citocinas principalmente pro-inflamatorias.

**APACHE II:** Variable independiente cualitativa, APACHE II es el acrónimo en inglés de «Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II», es un sistema de clasificación de severidad o gravedad de enfermedades<sup>19</sup>, uno de varios sistemas de puntuación usado en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI),

aplicado dentro de las 24 horas de admisión del paciente a una UCI. Es un valor entero de 0 a 71 que es calculado basado en varias medidas. A mayor puntuación, le corresponden enfermedades más severas y con un mayor riesgo de muerte.

**SOFA:** Variable independiente cualitativa. SOFA es el acrónimo en inglés de «Sequential Organ Failure Assessment» se creó en una reunión de consenso de la European Society of Intensive Care Medicine en 1994 y nuevamente revisado en 1996. El SOFA es un sistema de medición diaria de fallo orgánico múltiple de seis disfunciones orgánicas. Cada órgano se clasifica de 0 (normal) a 4 (el más anormal), proporcionando una puntuación diaria de 0 a 24 puntos. El objetivo en el desarrollo del SOFA era crear una puntuación simple, confiable, continuo y fácilmente obtenida en cada institución. Durante los primeros días de ingreso en la UCI es un buen indicador de pronóstico. Tanto la media, como la puntuación más alta son predictores particularmente útiles de resultados. Independiente de la puntuación inicial, un aumento en la puntuación SOFA durante las primeras 48 horas en la UCI predice una tasa de mortalidad de al menos el 50%.

#### *g. PROCEDIMIENTO GENERAL*

##### Metodología

##### Recolección de las muestras

La toma de muestras se realizó mediante venopunción humeral previa asepsia de la zona. Se colectaron 3 mL de sangre en tubos con heparina de Litio como anticoagulante para el análisis de leucocitos circulantes y 3 mL de sangre en tubo sin anticoagulante.

##### Determinación de LOX-1

Para la determinación de LOX-1 en neutrófilos se colocaron 50 microlitros de sangre periférica en tubos de citometría, se incubaron 15 minutos con la mezcla de anticuerpos (CD45/KO, CD14/PE-Cy7, CD16/PB y LOX-1/PE) en oscuridad, se adicionaron 300 microlitros de FACS Lysing Solution (BD Bioscience), se lavaron con 1 mL de PBS y se centrifugaron a 500 xg por 5 minutos, se decantó el sobrenadante y se adquirió en el citómetro de flujo.

#### *h. ANÁLISIS ESTADÍSTICO*

Se utilizó estadística descriptiva con base a las variables de interés. Así para las variables categóricas se reportaron tasas o proporciones. Para variables no categóricas se midieron a través de media, moda y desviación estándar según corresponden al caso.

El análisis comparativo de frecuencias de poblaciones se realizó mediante una U de Mann Whitney y se realizaron pruebas de hipótesis para determinar si son congruentes con los datos obtenidos, realizándose cálculo de error tipo 1. Para los análisis de correlaciones se utilizaron análisis de correlación bivariada tipo rho de Spearman. Además, se calculó el coeficiente de determinación o  $r^2$  para cada una de las asociaciones encontradas con la prueba de Spearman.

Se realizó análisis estadístico en programa SPSS versión 21.

Para efectos del análisis a desarrollar, se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo.

### *i. ASPECTOS ÉTICOS*

Este protocolo fue sometido a aprobación por el comité local de investigación en salud (CLIES) del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, así como a sus respectivas comisiones científica, de ética y bioseguridad.

#### Marco Legal

Este protocolo respeta las disposiciones enunciadas en la declaración de Helsinki de 1975 y sus enmiendas, así como los códigos y normas internacionales vigentes para las buenas prácticas en la investigación clínica. Aunado a lo anterior, se respetarán cabalmente los principios contenidos en el Código de Nuremberg, la Declaración de Helsinki y sus enmiendas, el Informe Belmont, el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos, y en el reglamento de la ley general de salud, tanto en materia de investigación para la salud (Título Quinto). El protocolo no califica para subordinarse a otras normas oficiales mexicanas específicas, ya que no utiliza compuestos radioactivos, compuestos químicos marcados, animales de laboratorio, partículas o materiales susceptibles de transmitir enfermedades infecciosas, ingeniería genética, terapia celular, ni sustancias químicas reactivas o tóxicas. Los procedimientos propuestos están de acuerdo con las normas éticas, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki.

#### Riesgo de la Investigación

Dado que este protocolo incluye la toma de muestras sanguíneas, esta investigación se clasifica con un riesgo tipo II (mayor que el mínimo), pero sólo fue realizada en pacientes adultos, sin estado de gravedad. Se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado antes de iniciar el mismo (Anexo I).

#### Contribuciones y Beneficios

Directamente no existe beneficio para el paciente, aunque los conocimientos generados si contribuirán al mejor entendimiento de la

relación entre la expresión de LOX-1 en células fagocíticas de pacientes con sepsis y la severidad de la misma.

#### Balance Riesgo Beneficio

Dado que las exploraciones biológicas se realizan en el laboratorio, donde la UIMIQ cuenta con las medidas de bioseguridad necesarias para ello y que todos los datos se manejan confidencialmente, el único riesgo real es el relacionado con la toma de sangre, los cuales se ven altamente superados por el beneficio académico y social de la información a obtener.

#### Confidencialidad

Todos los pacientes que ingresen al estudio son tratados con apego estricto de confidencialidad, quedando prohibida la divulgación de sus datos personales y médicos. Las hojas de recolección de datos (Anexo II) serán mantenidas en resguardo en el la UIMIQ del Hospital de Especialidades y únicamente serán utilizadas por los investigadores y únicamente con los propósitos de la investigación en curso. Los datos obtenidos para la investigación serán anotados únicamente en la hoja de recolección de datos; en el expediente clínico del paciente sólo se anotarán los datos clínicos relevantes para el seguimiento de su padecimiento. Los reportes de la investigación, como los artículos publicados o presentaciones en congresos y foros académicos, no llevarán ningún dato personal de los participantes.

#### Selección de Participantes

Antes de invitar a cada paciente a participar en el proyecto, se le explicó ampliamente su patología y las estrategias terapéuticas que le corresponden al momento, así como la posibilidad de participación en la investigación y los riesgos y potenciales beneficios que pueden derivar de ello. Si el paciente decidió no ser seleccionado para el protocolo se continuó su tratamiento tal y como está indicado de acuerdo al Servicio de Medicina Interna del Hospital de Especialidades de CMN "Siglo XXI", acordes a la norma oficial mexicana vigente y la normativa del IMSS. Sólo podrán ser seleccionados para este estudio los derechohabientes activos del Instituto Mexicano del Seguro Social. Se seleccionaron a los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y que exenten los criterios de exclusión o eliminación.

#### *j. RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD*

El presente protocolo de investigación es efectuado con recursos de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, así como con consumibles para toma de muestras del Hospital de Especialidades. Es factible la realización del presente trabajo de investigación, toda vez que el Instituto cuenta con la infraestructura necesaria para el desarrollo del protocolo. De manera adicional, el presente trabajo de investigación se sometió a concurso para obtención de recursos económicos para la

compra de reactivos para la compra de anticuerpos y reactivos necesarios para la caracterización de LOX-1 en neutrófilos y monocitos mediante citometría de flujo.

Recursos utilizados:

- Investigadores: médicos del servicio de Medicina Interna e investigadores de la UIM en Inmunoquímica, de la UMAE Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI.
- Equipo: centrifugas, citómetro de flujo, cámaras de electroforesis para la realización de Western Blot, incubadora para el cultivo de células endoteliales, microscopio óptico invertido acoplado a cámara.
- Equipo de cómputo: propiedad del investigador principal.
- Papelería: proporcionada por los investigadores.
- Paquete estadístico: se utilizará paquete estadístico SPSS versión 21, ya integrado en el equipo de cómputo destinado para la investigación.

## RESULTADOS

Se reclutaron un total de 21 sujetos; 10 voluntarios sanos, que formaron el grupo testigo, y 11 pacientes con diagnóstico de sepsis.

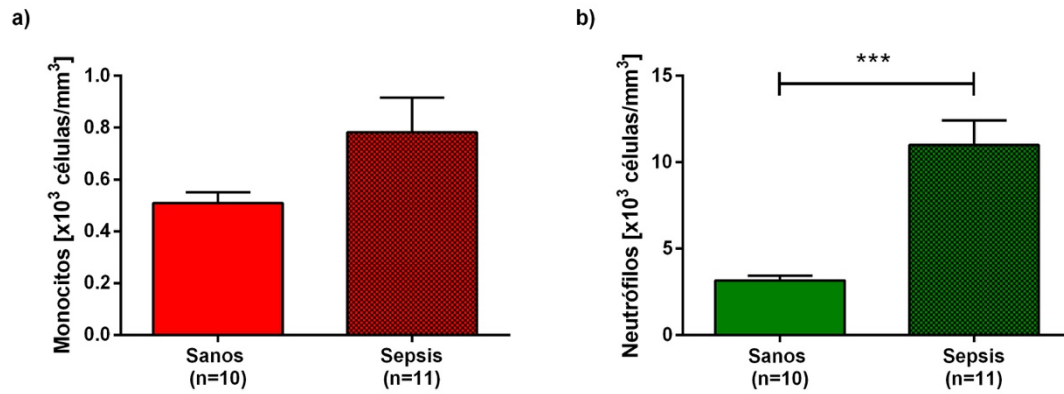
La mayoría de los sujetos reclutados en ambos grupos fueron hombres. El promedio de edad fue mayor en los pacientes con sepsis que en los sanos. El recuento leucocitario fue mayor en los pacientes con sepsis, encontrando además alteraciones en laboratorios compatibles con descontrol glucémico y alteraciones en la función renal, cumpliendo criterio de lesión renal aguda en tres de los casos de pacientes con sepsis. Las características clínicas de los pacientes al momento de la toma de la muestra se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los sujetos incluidos**

	<b>Voluntarios sanos (n= 10)</b>	<b>Pacientes con sepsis (n = 11)</b>
<b>EDAD</b>	34 ± 15	52 ± 14
<b>GÉNERO F:M</b>	1:9	5:6
<b>TEMPERATURA (°C)</b>	36.5	37.6
<b>FC (latidos/min)</b>	74	96
<b>FR (respiraciones/min)</b>	17	21
<b>PAM</b>	86.3	82.2
<b>LEUCOCITOS (<math>\times 10^3 / \text{mm}^3</math>)</b>	6.5 ± 1.3	15.0 ± 4.28
<b>NEUTRÓFILOS (<math>\times 10^3 / \text{mm}^3</math>)</b>	3.5 ± 0.7	12.5 ± 4.8
<b>MONOCITOS (<math>\times 10^3 / \text{mm}^3</math>)</b>	0.55 ± 0.13	0.8 ± 0.46
<b>PLAQUETAS</b>	245.0 ± 41.5	265 ± 155
<b>HEMOGLOBINA</b>	16.4 ± 1.8	12.3 ± 2.54
<b>GLUCOSA</b>	90.37 ± 11	116.8 ± 35.9
<b>UREA</b>	34.9 ± 9.07	67.5 ± 65.8
<b>CREATININA</b>	0.9 ± 0.13	1.1 ± 0.7
<b>APACHE II</b>	ND	10.6 ± 7.63
<b>SOFA</b>	ND	5.3 ± 4.96
<b>SOBREVIVIENTES</b>	10	11

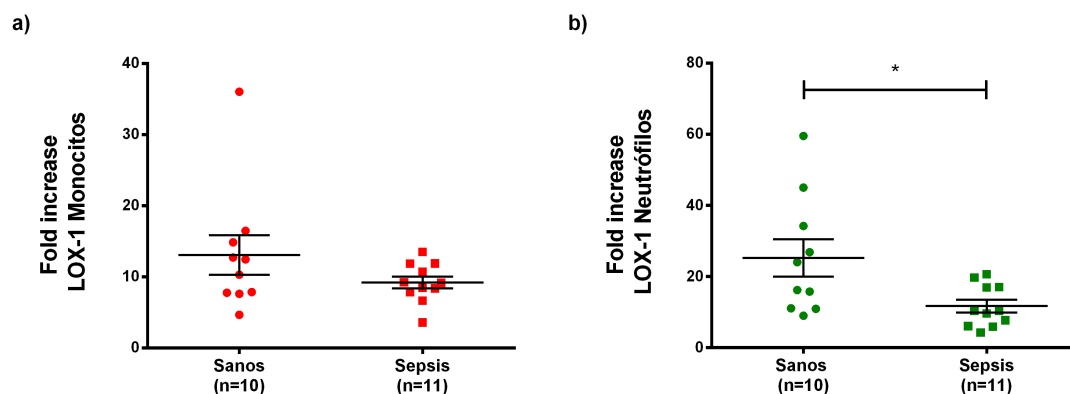
F:M=relación Femenino:Masculino; FC=Frecuencia Cardíaca; FR=Frecuencia Respiratoria; PAM=Presión Arterial Media; APACHE II=Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II; SOFA=Sequential Organ Failure Assessment; NA=No Aplica

El conteo de células fagocíticas (números absolutos) de voluntarios sanos (n=10) y pacientes con sepsis (n=11) fue: para monocitos ( $0.51 \times 10^3 \pm 0.04$  vs.  $0.78 \times 10^3 \pm 0.13$  células/ $\text{mm}^3$ ) y para neutrófilos ( $3.17 \times 10^3 \pm 0.27$  vs.  $11.01 \times 10^3 \pm 1.41$  células/ $\text{mm}^3$ ). Como se muestra en la **Figura 2**, la cantidad de neutrófilos circulantes es significativamente mayor en pacientes con sepsis respecto a voluntarios sanos.



**Figura 2. El número de neutrófilos aumenta en pacientes con sepsis.** Se muestra el número absoluto de a) monocitos y b) neutrófilos de voluntarios sanos (n = 10) y pacientes con sepsis (n = 11). Se representa la media  $\pm$  el error estándar (SEM). Prueba estadística: U de Mann Whitney (\*\*p<0.005).

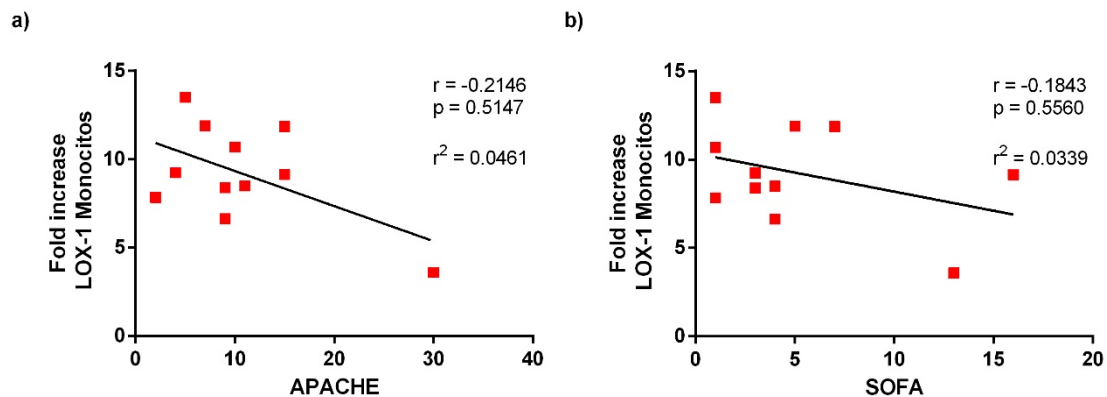
La expresión de LOX-1 en células fagocíticas se determinó tomando en cuenta el incremento en la intensidad media de fluorescencia del fluorocromo ficoeritrina (PE) acoplado a LOX-1 respecto a la autofluorescencia. Como se observa en la **Figura 3**, en el caso de monocitos, LOX-1 tiende a disminuir su expresión en pacientes con sepsis en comparación a voluntarios sanos ( $9.20 \pm 0.83$  vs.  $13.07 \pm 2.80$ ). En neutrófilos, LOX-1 disminuye significativamente ( $25.28 \pm 5.26$  vs.  $11.73 \pm 5.87$ ) en pacientes con sepsis en comparación a voluntarios sanos.



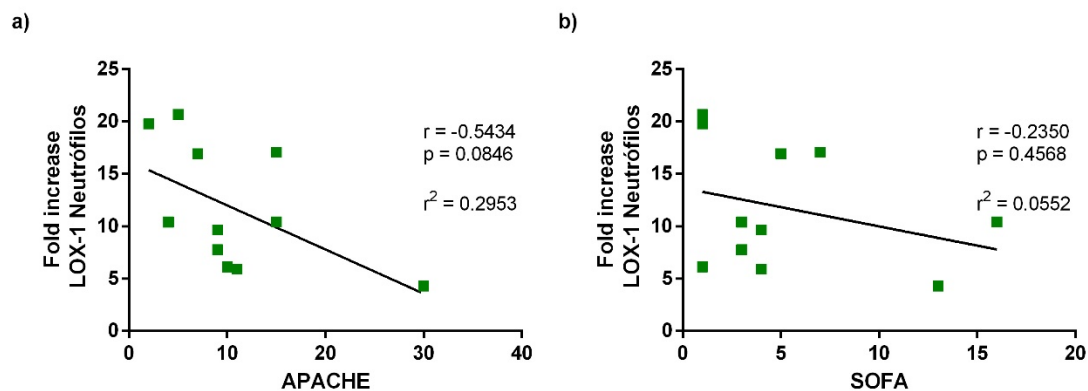
**Figura 3. LOX-1 disminuye en neutrófilos de pacientes con sepsis.** Se muestran las veces que incrementa (fold increase) LOX-1 en a) monocitos y b) neutrófilos de voluntarios sanos (n = 10) y pacientes con sepsis (n = 11). Se representa la media  $\pm$  el error estándar (SEM). Prueba estadística: U de Mann Whitney (\*p<0.05).



Se evaluó la correlación entre la expresión de LOX-1, en monocitos y neutrófilos de pacientes con sepsis, y las escalas de severidad (SOFA y APACHE). Como se muestra en las **Figuras 5 y 6**, la expresión de LOX-1 en ambas células fagocíticas no correlaciona de manera estadísticamente significativa con ninguna de las escalas empleadas para evaluar la severidad de la sepsis. Sin embargo, se muestra una tendencia a que la expresión de LOX-1, en monocitos y neutrófilos, correlacione negativamente con la severidad de la sepsis; es decir, que a menor expresión de LOX-1, la severidad de la sepsis aumentaría.



**Figura 4. Correlación de la expresión de LOX-1 en monocitos con las escalas de severidad de pacientes con sepsis.** Se muestra la correlación entre el incremento de LOX-1 (fold increase) y las escalas de a) APACHE y b) SOFA en monocitos de pacientes con sepsis (n = 11). Cada punto representa los valores individuales correspondientes a cada uno de los pacientes con sepsis. Prueba estadística: Correlación bivariada tipo Spearman.



**Figura 5. Correlación de la expresión de LOX-1 en neutrófilos con las escalas de severidad de pacientes con sepsis.** Se muestra la correlación entre el incremento de LOX-1 (fold increase) y las escalas de a) APACHE y b) SOFA en neutrófilos de pacientes con sepsis (n = 11). Cada punto representa los valores individuales correspondientes a cada uno de los pacientes con sepsis. Prueba estadística: Correlación bivariada tipo Spearman.

## DISCUSIÓN

La escala de APACHE ubica a los pacientes reclutados en el grupo I de acuerdo a la clasificación de Knaus, lo que representa un riesgo a fallecer menor al 5%<sup>19</sup>.

De acuerdo con el trabajo de Poma y colaboradores, el puntaje de SOFA correlacionado con el de APACHE II otorga a los pacientes reclutados para este estudio un riesgo a fallecer menor al 20%<sup>20</sup>, lo que sugiere que al momento de la toma de la muestra, el estado de los pacientes era de poca a moderada severidad.

El ligando de LOX-1 son las lipoproteínas oxidadas; sin embargo se ha descrito que también puede unir a: Proteína C reactiva, células apoptóticas, bacterias, y plaquetas activadas<sup>21</sup>, lo cual hace que este sea un receptor claramente involucrado en la respuesta inflamatoria como se ha comprobado para procesos como aterosclerosis<sup>22</sup> o enfermedad isquémica cardíaca<sup>23</sup>.

En monocitos LPS puede inducir la expresión de LOX-1<sup>24</sup>. En sepsis, aún cuando esta no este causada por bacterias Gram+, es factible que la traslocación bacteriana pueda inducir la estimulación de TLR4 o bien, que alarminas como HMGB1 y proteínas de choque térmico constituyan el ligando estimulador de TLR4<sup>25</sup>. De allí que se esperara incremento en la expresión de LOX-1 en pacientes con sepsis.

Al inhibir la expresión de LOX-1 en la línea celular THP-1 (derivada de macrófagos humanos) disminuye el daño del DNA mitocondrial, así como la autofagia y activación de NLRP3<sup>22</sup>. Esta disminución de la respuesta inflamatoria al bloquear LOX-1, concuerda con la propuesta de que es la atenuación de la respuesta inflamatoria lo que mejora la sobrevivencia en sepsis polimicrobiana en los ratones que no expresan LOX-1<sup>26</sup>. Es factible que en nuestro caso la disminución de LOX-1 forme parte de los mecanismo que contrarrestan la sobreactivación de neutrófilos circulantes en humanos, que. Como en nuestro caso, suelen estar incrementados en números en la sangre de sujetos con sepsis.

El tamaño de la muestra es una de las limitantes de este estudio. Además se debe considerar que los resultados pudieran estar modificados por el hecho de que la mayoría de los pacientes en el grupo de sepsis se encontraban con antibióticoterapia y los procesos sépticos no eran graves.

Hacen falta más estudios para determinar si el papel de LOX-1 en sepsis realmente correlaciona con la severidad y el pronóstico de los pacientes.

## **CONCLUSIÓN**

En el estado de hiperoxidación de la sepsis, la disminución de la expresión de LOX-1 en neutrófilos, podría estar involucrada en la contención el daño.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1 Nduka, O. O. & Parrillo, J. E. The pathophysiology of septic shock. *Crit Care Clin* **25**, 677-702, vii, doi:10.1016/j.ccc.2009.08.002 (2009).
- 2 Singer, M. *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* **315**, 801-810, doi:10.1001/jama.2016.0287 (2016).
- 3 Nystrom, P. O. The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* **41 Suppl A**, 1-7 (1998).
- 4 Ferat-Osorio, E. *et al.* Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 expression on monocytes is associated with inflammation but not with infection in acute pancreatitis. *Critical care* **13**, R69, doi:10.1186/cc7876 (2009).
- 5 Shapiro, N. I. *et al.* The association of endothelial cell signaling, severity of illness, and organ dysfunction in sepsis. *Critical care* **14**, R182, doi:10.1186/cc9290 (2010).
- 6 Streimish, I. *et al.* Neutrophil CD64 as a diagnostic marker in neonatal sepsis. *The Pediatric infectious disease journal* **31**, 777-781, doi:10.1097/INF.0b013e318256fb07 (2012).
- 7 Danikas, D. D., Karakantza, M., Theodorou, G. L., Sakellaropoulos, G. C. & Gogos, C. A. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression. *Clin Exp Immunol* **154**, 87-97, doi:10.1111/j.1365-2249.2008.03737.x (2008).
- 8 Segal, A. W., Dorling, J. & Coade, S. Kinetics of fusion of the cytoplasmic granules with phagocytic vacuoles in human polymorphonuclear leukocytes. Biochemical and morphological studies. *The Journal of cell biology* **85**, 42-59 (1980).
- 9 Drifte, G., Dunn-Siegrist, I., Tissieres, P. & Pugin, J. Innate immune functions of immature neutrophils in patients with sepsis and severe systemic inflammatory response syndrome. *Critical care medicine* **41**, 820-832, doi:10.1097/CCM.0b013e318274647d (2013).
- 10 Li, D. *et al.* Statins modulate oxidized low-density lipoprotein-mediated adhesion molecule expression in human coronary artery endothelial cells: role of LOX-1. *J Pharmacol Exp Ther* **302**, 601-605, doi:10.1124/jpet.102.034959 (2002).
- 11 Mattaliano, M. D. *et al.* LOX-1-dependent transcriptional regulation in response to oxidized LDL treatment of human aortic endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **296**, C1329-1337, doi:10.1152/ajpcell.00513.2008 (2009).
- 12 Cominacini, L. *et al.* Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) binding to ox-LDL receptor-1 in endothelial cells induces the activation of NF-kappaB through an increased production of intracellular reactive oxygen species. *The Journal of biological chemistry* **275**, 12633-12638 (2000).
- 13 Xu, S. *et al.* LOX-1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers. *Cell Mol Life Sci* **70**, 2859-2872, doi:10.1007/s00018-012-1194-z (2013).

- 14 Kume, N. *et al.* Inducible expression of lectin-like oxidized LDL receptor-1 in vascular endothelial cells. *Circ Res* **83**, 322-327 (1998).
- 15 Shih, H. H. *et al.* CRP is a novel ligand for the oxidized LDL receptor LOX-1. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **296**, H1643-1650, doi:10.1152/ajpheart.00938.2008 (2009).
- 16 Shimaoka, T. *et al.* LOX-1 supports adhesion of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of immunology* **166**, 5108-5114 (2001).
- 17 Landsberger, M. *et al.* Inhibition of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 reduces leukocyte adhesion within the intestinal microcirculation in experimental endotoxemia in rats. *Critical care* **14**, R223, doi:10.1186/cc9367 (2010).
- 18 Wu, Z. *et al.* LOX-1 deletion improves neutrophil responses, enhances bacterial clearance, and reduces lung injury in a murine polymicrobial sepsis model. *Infect Immun* **79**, 2865-2870, doi:10.1128/IAI.01317-10 (2011).
- 19 Knaus, W. A., Draper, E. A., Wagner, D. P. & Zimmerman, J. E. APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical care medicine* **13**, 818-829 (1985).
- 20 Esquicha, Julio A.; Falcon, Néstor; Oshiro, Susana. Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con neurocisticercosis en un hospital general de Lima. *Rev Med Hered*, Lima, 23,1 (2012)
- 21 Heather H. Shih, Songwen Zhang, Wei Cao, Ashleigh Hahn, Juan Wang, Janet E. Paulsen, Douglas C. Harnish. CRP is a novel ligand for the oxidized LDL receptor LOX-1. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* May 2009, 296 (5) H1643-H1650; DOI: 10.1152/ajpheart.00938.2008
- 22 Ding Z, Liu S, Wang X, Dai Y, Khaidakov M, Deng X, Fan Y, Xiang D, Mehta JL. LOX-1, mtDNA damage, and NLRP3 inflammasome activation in macrophages: implications in atherogenesis. *Cardiovasc Res.* 2014 Sep 1;103(4):619-28. doi: 10.1093/cvr/cvu114
- 23 Neri Seneri GG, Coppo M, Bandinelli M, Paoletti P, Toscano T, Micalizzi E, Chiostrì M, Boddi M. *Atherosclerosis.* 2013 Feb;226(2):476-82. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.11.007
- 24 Pang T, Wang J, Benicky J, Saavedra JM. Minocycline ameliorates LPS-induced inflammation in human monocytes by novel mechanisms including LOX-1, Nur77 and LITAF inhibition. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1820:503–510
- 25 Lee SM, Hutchinson M, Saint DA. The role of Toll-like receptor 4 (TLR4) in cardiac ischaemic-reperfusion injury, cardioprotection and preconditioning *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2016 Sep;43(9):864-71. doi: 10.1111/1440-1681.12602
- 26 Wu Z, Sawamura T, Kurdowska A.K, Ji H-L, Idell S, Fu J. LOX-1 Deletion Improves Neutrophil Responses, Enhances Bacterial Clearance, and Reduces Lung Injury in a Murine Polymicrobial Sepsis Model. *Infection and Immunity*, July 2011, p. 2865–2870 Vol. 79, No. 7 doi:10.1128/IAI.01317-10

## ANEXOS

### ANEXO I.

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN

Y POLITICAS DE SALUD

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

(ADULTOS)

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: "Expresión de LOX-1 en fagocitos circulantes de pacientes con sepsis"

Lugar y fecha: Avenida Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, Delegación Cuauhtémoc, México D.F. C. P. 06720

Número de registro: **R-2017-3601-95**

Justificación y objetivo del estudio: El objetivo de este estudio es conocer si en unos glóbulos blancos de la sangre (conocidos como neutrófilos y monocitos) hay una molécula llamada LOX-1, que normalmente reconoce grasa (lipoproteína oxidada) y sustancias asociadas con inflamación, como una llamada proteína C reactiva. Se propone que puede estar relacionada con que en los pacientes con enfermedades muy graves disminuya la capacidad de eliminación de bacterias y agrave la inflamación. Sin embargo esto no se ha probado en pacientes con sepsis. De allí que el objetivo de este trabajo es verificar si en pacientes con sepsis hay más LOX-1 en neutrófilos y monocitos y si esto tiene que ver con la severidad de la enfermedad de los pacientes.

Procedimientos: Su participación en este estudio consistirá en que nos permita tomarle de una vena de su (ante)brazo una muestra de sangre, en cantidad equivalente a dos cucharadas. Adicionalmente requerimos nos permita tomar datos de su expediente clínico referentes a su enfermedad.

Posibles riesgos y molestias:

La toma de muestra puede ocasionar dolor en el sitio de punción o hematoma (moretón).

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: Usted no recibirá ningún tipo de beneficio directo por su participación en el presente estudio, ya que al momento los resultados que se obtengan no modificarán ni el tipo de tratamiento ni su manejo por parte de los médicos en el IMSS. Sin embargo los resultados de dicha investigación serán útiles para entender mejor por qué algunos pacientes con infecciones severas pueden tener problemas de salud adicionales y así, en el futuro se podrán tomar mejores medidas para evitar estas u otras complicaciones.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento: Al analizar sus resultados junto con el resto de los demás pacientes nos permitirá obtener información valiosa para tener en cuenta la implicación de estas partículas en la lesión renal aguda e hipertensión arterial y sus complicaciones, La información que tomemos de su expediente será estrictamente confidencial y usted podrá solicitar los resultados que se obtengan en el análisis final de los datos.

Participación o retiro: Su participación en este estudio de investigación es estrictamente voluntaria. Usted puede decidir participar o no o bien retirarse del estudio en cualquier momento sin penalidad. Si usted decide no participar su atención en el instituto seguirá de manera habitual sin ninguna restricción al tratamiento.

Privacidad y confidencialidad: Los datos de su enfermedad serán manejados de forma confidencial y codificados para el análisis final, de tal forma que se mantenga la privacidad de los mismos.

En caso de colección de material biológico (si aplica):

\_\_\_\_\_ No autoriza que se tome la muestra.

\_\_\_\_\_ Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

\_\_\_\_\_ Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

Es importante que Usted sepa que ya sea Ud. acepte o no participar en el estudio, la atención que Ud. o su familiar reciban será la misma de acuerdo a lo indicado por las guías de manejo clínico y buen trato del IMSS.

Beneficios al término del estudio: Al finalizar el estudio tendremos conocimiento sobre la presencia de LOX-1 en los pacientes con sepsis y sabremos si esto se relaciona con la severidad de la enfermedad, lo que permitirá, en el futuro, incrementar las herramienta que tenemos para el cuidado de los pacientes con sepsis.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

Investigador Responsable: Dra. Lourdes Andrea Arriaga Pizano, Investigadora Asociada D, Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI. Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, CP. 06720. Tel. 56276900, ext. 21476, correo electrónico: landapi@hotmail.com

Colaboradores: Dra. Berenice González Flores, residente del Cuarto año de la especialidad Medicina Interna, Hospital de Especialidades, CMN SXXI, Av. Cuauhtémoc 330, 4to piso, México D.F., CP. 06720, teléfono: 55 6609 4857, correo electrónico: bgonzalezflores@hotmail.com

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del sujeto

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma  
relación y firma

Nombre, dirección,

Clave: 2810-009-013



ANEXO II

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS. (PACIENTES)

NOMBRE DEL PACIENTE:

\_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_\_ FECHA DE NACIMIENTO: \_\_\_\_\_

NSS: \_\_\_\_\_ GÉNERO: \_\_\_\_\_

DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_

FECHA DE DIAGNÓSTICO DE SEPSIS: \_\_\_\_\_

FOCO INFECCIOSO CAUSANTE DEL PROCESO SÉPTICO:

\_\_\_\_\_

PARÁMETROS DE LABORATORIO AL DIAGNÓSTICO:

LEUCOCITOS \_\_\_\_\_ PLAQUETAS \_\_\_\_\_

HEMOGLOBINA \_\_\_\_\_ GLUCOSA \_\_\_\_\_

UREA \_\_\_\_\_ CREATININA \_\_\_\_\_

PPROTEÍNA C REACTIVA \_\_\_\_\_

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR: NO \_\_\_\_\_ SI \_\_\_\_\_

OBESIDAD \_\_\_ SOBREPESO \_\_\_ TABACO \_\_\_ DISLIPIDEMIA \_\_\_

DM \_\_\_ HAS \_\_\_ POSTMENOPAUSIA \_\_\_\_\_

TRATAMIENTOS ANTIBIÓTICOS EMPLEADOS:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

DISTRIBUCIÓN DE LEUCOCITOS:

NEUTRÓFILOS: % \_\_\_\_\_ No.de células/dL: \_\_\_\_\_

MONOCITOS: % \_\_\_\_\_ No.de células/dL: \_\_\_\_\_

NEUTRÓFILOS QUE EXPRESAN LOX-1

(%): \_\_\_\_\_ NO. ABSOLUTOS: \_\_\_\_\_ (IMF): \_\_\_\_\_

MONOCITOS QUE EXPRESAN LOX-1

(%): \_\_\_\_\_ NO. ABSOLUTOS: \_\_\_\_\_ (IMF): \_\_\_\_\_

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS. (CONTROLES)

NOMBRE DEL DONADOR:

\_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_\_ FECHA DE NACIMIENTO: \_\_\_\_\_

NSS: \_\_\_\_\_ GÉNERO: \_\_\_\_\_

PARÁMETROS DE LABORATORIO AL MOMENTO DE LA DONACIÓN:

LEUCOCITOS \_\_\_\_\_ PLAQUETAS \_\_\_\_\_

HEMOGLOBINA \_\_\_\_\_ GLUCOSA \_\_\_\_\_

UREA \_\_\_\_\_ CREATININA \_\_\_\_\_

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR: NO \_\_\_\_\_ SI \_\_\_\_\_

OBESIDAD \_\_\_ SOBREPESO \_\_\_ TABACO \_\_\_ DISLIPIDEMIA \_\_\_

DM \_\_\_ HAS \_\_\_ POSTMENOPAUSIA \_\_\_\_\_

DISTRIBUCIÓN DE LEUCOCITOS:

NEUTRÓFILOS: % \_\_\_\_\_ No.de células/dL: \_\_\_\_\_

MONOCITOS: % \_\_\_\_\_ No.de células/dL: \_\_\_\_\_

NEUTRÓFILOS QUE EXPRESAN LOX-1

(%): \_\_\_\_\_ NO. ABSOLUTOS: \_\_\_\_\_ (IMF): \_\_\_\_\_

MONOCITOS QUE EXPRESAN LOX-1

(%): \_\_\_\_\_ NO. ABSOLUTOS: \_\_\_\_\_ (IMF): \_\_\_\_\_

FECHA DE ÚLTIMA VALORACIÓN:

\_\_\_\_\_

CONDICIÓN DEL INDIVIDUO:

\_\_\_\_\_