



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION SUR DEL DISTRITO FEDERAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
"DR. BERNARDO SEPULVEDA"

**NIVELES DE CÉLULAS NK CD56DIM O CD56BRIGHT
EN SANGRE PERIFÉRICA EN PACIENTES CON COVID-
19 INFLUYEN EN EL DESENLACE DE LA ENFERMEDAD**

TESIS
PARA OBTENER EL DIPLOMA
EN LA ESPECIALIDAD DE MEDICINA INTERNA

PRESENTA:
DR. RAMÓN ESPINOSA SOTO

TUTOR PRINCIPAL:
DR. EN C. EDUARDO FERAT OSORIO

CO-TUTOR:
DRA. JUAN CARLOS ANDA GARAY



CIUDAD DE MEXICO

FEBRERO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



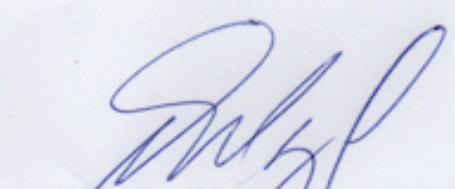
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

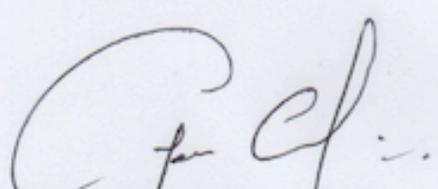
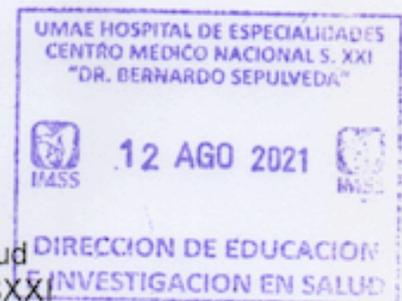
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

NIVELES DE CÉLULAS NK CD56DIM O CD56BRIGHT EN SANGRE
PERIFÉRICA EN PACIENTES CON COVID-19 INFLUYEN EN EL DESENLACE
DE LA ENFERMEDAD



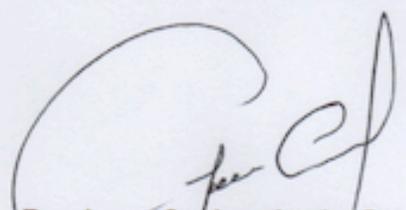
Dra. Victoria Mendoza Zubieta
Jefe de la División de Educación en Salud
UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI



Dr. Juan Carlos Anda Garay
Profesor titular del curso
Médico adscrito al servicio de Medicina Interna
UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI



Dra. en Ciencias Eduardo Ferat Osorio
Tutor principal
Investigador Titular A
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica
UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI



Dr. Juan Carlos Anda Garay
Co-Tutor
Profesor titular del curso
Médico adscrito al servicio de Medicina Interna
UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **3601**.

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES Dr. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS **17 CI 09 015 034**

Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 09 CEI 023 2017082**

FECHA **Martes, 22 de junio de 2021**

Dr. Eduardo Antonio Ferat Osorio

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Niveles de células NK CD56dim o CD56bright en sangre periférica en pacientes con COVID-19 influyen en el desenlace de la enfermedad** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, 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 **APROBADO**:

Número de Registro Institucional

R-2021-3601-099

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. Carlos Fredy Cuevas García

Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3601

Imprimir

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco sinceramente:

A la **Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México** por darme las bases que me permitirán desarrollarme como un profesional de la salud.

Al **Instituto Mexicano del Seguro Social** por el apoyo económico brindado durante este periodo.

Al **Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepulveda” del Centro Médico Nacional Siglo XXI** por darme las bases, conocimientos y los recursos necesarios para formarme como médico especialista en Medicina Interna.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

Principalmente a **mis padres y a mi hermana** por apoyarme en este proyecto profesional, sin su apoyo absolutamente nada de esto sería posible.

A **Nora Elemi Regino Zamarripa y a sus padres** por su inagotable apoyo a lo largo de toda esta etapa.

En forma muy especial al **Dr. Juan Carlos Anda Garay** quien con el ejemplo nos enseña a ser médicos especialistas altamente competentes con sentido humano.

A mi tutora de tesis la **Dra. En C. Lourdes Andrea Arriaga Pizano** por su tiempo, enseñanzas y sugerencias a lo largo de todo este proceso.

A la **Dra. En C. Ruth Madera** por su tiempo y apoyo en el proceso de realización de la tesis.

A mis queridos maestros por sus valiosas aportaciones y enseñanzas:

Dra. Maura Estela Noyola

Dr. Paolo Alberto Minuti

Dr. Carlos Eduardo Contreras

Dra. Alejandra Albarran Sanchez

Dr. Guillermo Flores Padilla

Dr. Jose Malagon Rangel

A todos los participantes del proyecto por formar parte de este trabajo y contribuir al mejor conocimiento de la inmunopatogénesis de la COVID-19.

1. DATOS DEL ALUMNO	
APELLIDO PATERNO	ESPINOSA
APELLIDO MATERNO	SOTO
NOMBRE	RAMON
TELEFONO	5516224359
UNIVERSIDAD	UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD O ESCUELA	FACULTAD DE MEDICINA
CARRERA/ESPECIALIDAD	MEDICINA INTERNA
No. DE CUENTA	308572632
CORREO ELECTRÓNICO	respinosasoto@outlook.com
2. DATOS DE LOS TUTORES	
TUTOR PRINCIPAL:	Dr. Eduardo Ferat Osorio Investigador Titular A. División de Investigación en Salud, Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica y Servicio de Gastrocirugía Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Tel: 56276900 ext. 21476 Correo electrónico: eduardoferat@me.com
CO-TUTOR	DR. JUAN CARLOS ANDA GARAY Especialista en Medicina Interna Maestra en Ciencias Médicas, UNAM. Jefe del Servicio de Medicina Interna, Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional Siglo XXI Teléfono: 56276900 ext. 21551 E-mail: andag@yahoo.com
3. DATOS DE LA TESIS	
TITULO	Niveles de células NK CD56dim o CD56bright en sangre periférica en pacientes con COVID-19 influyen en el desenlace de la enfermedad
No. DE PAGINAS	45 P
AÑO	2021
NUMERO DE REGISTRO	R-2021-3601-099

INDICE

	TEMA	PÁGINA
1	Resumen	9
2	Marco teórico	11
3	Planteamiento del problema	15
4	Justificación	16
5	Pregunta de investigación	17
6	Hipótesis	18
7	Objetivos	19
8	Pacientes y métodos	20
9	Diseño del estudio	22
10	Criterios de selección	23
11	Tamaño de la muestra y análisis estadístico	24
12	Definición de variables	25
13	Aspectos éticos	28
14	Resultados	31
15	Discusión	35
16	Conclusión	37
18	Bibliografía	38
19	Anexos	40

RESUMEN

COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*) por sus siglas en ingles es una nueva infección viral ocasionada por el virus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2). Las células NK (*Natural Killers*) por sus siglas en ingles son esenciales en la respuesta inmune temprana contra infecciones virales en particular a través del aclaramiento de las células infectadas por el virus. Estudios exploratorios en otras poblaciones del mundo afectados con la forma severa o critica de COVID-19 sugieren una reducción del numero y la función de células NK resultando en un aclaramiento disminuido de las células infectadas acompañado de una elevación descontrolada de marcadores inflamatorios de daño tisular. El objetivo del estudio es evaluar la asociación de la cantidad de células NK y sus subtipos en sangre periférica de pacientes con COVID-19 y el desenlace de la enfermedad. Se estudio a un grupo de pacientes adultos que ingresaron con la sintomatología asociada a COVID-19 a la UMAE Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS que presentaron prueba de RT-PCR positivo para SARS-CoV-2. Resultados: Se incluyeron un total de 11 pacientes admitidos en el área COVID-19, los pacientes fueron divididos en aquellos que mejoraron (n= 7) y los que fallecieron (n= 4) en la estancia hospitalaria. Las características clínicas que arrojaron significancia estadística se encuentra el IMC el cual fue menor para los decesos (26 ± 2) en comparación con los que mejoraron (29 ± 4) con una $P=0.003$. Se identificó hipertensión arterial en el 50 % de pacientes en el grupo de fallecidos que presentaban esta enfermedad ($p= 0.0024$), sin embargo, ninguno de ellos tenía obesidad ($p= <0.0001$). El análisis de los estudios

de laboratorio no mostró ninguna diferencia significativa en estos dos grupos, ni en la cuantificación de NK totales y sus subtipos, pero si en la estancia hospitalaria ($p=0.047$), en promedio los sobrevivientes requerían 12 días de atención hospitalaria, mientras que los fallecidos 18 y morían en el hospital. Todos los fallecidos presentaban temperatura superior a los 38°C al ingreso al hospital, mientras que los sobrevivientes no ($p= <0.0001$), dentro de los síntomas a destacar están, la tos, fatiga, disnea, congestión nasal, artralgias y diarrea con mayor predominio en los fallecidos.

La cuantificación de células NK totales y sus subtipos se realizaron mediante citometría de flujo, se encontró que los pacientes que fallecieron al día del ingreso tenían un menor porcentaje de células NK totales en comparación con los recuperados (Fig.1), mientras que los subtipos CD56^{Low} y $\text{CD56}^{\text{High}}$, no tienen diferencia estadística significativa. Conclusion: La cuantificación de células NK totales y sus subtipos de los pacientes que fallecieron al día del ingreso presentaron un porcentaje menor de células NK totales en comparación con los recuperados.

MARCO TEORICO

En diciembre del 2019 fue detectada en Wuhan, provincia de Hubei, China, un conjunto de neumonías de etiología desconocida, y en enero del 2020 se identificó el agente causal, que se denominó un nuevo coronavirus (2019-nCoV), actualmente denominado como SARS-CoV-2, que produce la enfermedad COVID-19¹.

La mayoría de los pacientes infectados por el SARS-CoV-2 desarrollan síntomas leves y se resuelven de forma espontánea, situación que aplica especialmente a los individuos jóvenes. Recientemente el número de infectados pueden duplicarse cada 7 días y el número reproductivo del virus (R_0) permite a cada paciente la posibilidad de diseminar la infección a otras 2.2 personas². Con el avance de la pandemia se ha observado que COVID-19 puede ser desarrollado a cualquier edad, aunque las personas de edad avanzada tienen mayor riesgo de presentar las formas graves de la enfermedad que incluyen, neumonías graves que se caracterizan por hipoxemia; linfopenia y elevación de mediadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR), dímero D, que ha mostrado ser un marcador de mal pronóstico en pacientes con COVID-19³. Además, se reconocen alteraciones radiológicas (en Radiografías y Tomografías); edema pulmonar; sepsis, Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda (ARDS, por sus siglas en inglés, *Acute Respiratory Distress Syndrome*) y choque séptico.

El SARS-CoV-2 es un virus de RNA, de una sola cadena y con alta homología con otros coronavirus, 79% con SARS-CoV y 51% con MERS-CoV. Posee 14 residuos

de unión que se unen al receptor ACE2 (*Angiotensin-converting enzyme 2*, enzima convertidora de angiotensina 2), que se expresa en diferentes células, principalmente en las epiteliales alveolares tipo I y II. La similitud genómica con SARS-CoV podría ayudar a conocer y explicar la fisiopatología de la enfermedad⁴. En modelos experimentales animales se observó que los ratones carentes de ACE2 están protegidos de la infección por SARS *in vivo*. La infección por SARS-CoV y la proteína S (*Spike protein*) regulan negativamente la expresión de ACE2. Aparentemente, en forma paradójica, ACE2 reduce la posibilidad de desarrollar daño pulmonar al reducir la activación de Angiotensina II y la unión de ésta a su receptor AT1R a nivel pulmonar; esta evidencia podría explicar por qué el SARS-CoV puede llegar a tener la letalidad antes mencionada por daño pulmonar^{5,6}.

Papel de las células NK en COVID-19

El sistema inmunológico es fundamental para defender y eliminar el virus y las células infectadas. Sin embargo, la desregulación inmunológica puede resultar en la rápida progresión de COVID-19. En la primera línea de defensa se inicia por la presencia de unos receptores (PRR, por sus siglas en inglés, o receptores de reconocimiento de patrones) en las células del sistema inmunitario (como macrófagos y células dendríticas presentes en los tejidos) que reconocen unos patrones moleculares asociados a patógenos (llamados PAMP). También activan a las células citotóxicas que intervienen en esta fase (fundamentalmente células NK) eliminando las células infectadas, se ha descrito que su número está reducido en la sangre periférica de estos enfermos⁷; y no solo las células NK si no que una linfopenia generalizada. En los casos graves la linfopenia es muy acentuada y

puede ser debida a múltiples factores como destrucción de linfocitos mediada por el virus, mecanismos de muerte celular como la piroptosis, el agotamiento de la respuesta con activación de receptores inhibidores o la migración a los lugares donde tiene lugar la respuesta inflamatoria. Afecta a linfocitos B, a los T cooperadores, a los T citotóxicos y a las células NK limitando la respuesta inmunitaria adaptativa. En la respuesta innata las células citotóxicas NK juegan un papel fundamental. Se ha descrito que su número está reducido en la sangre periférica de estos enfermos especialmente en los casos más graves. Concentraciones elevadas de IL-6 y TNF- α presentes en esos enfermos contribuyen también a inhibir su capacidad citolítica. Además, se ha observado un aumento de receptores NKG2A, LAG3 y TIM3 en estas células NK que inhiben su capacidad funcional lo que contribuiría a la disminución de su capacidad citotóxica. Al remitir la enfermedad el número de células NK se restaura y la expresión de NKG2A disminuye⁸. Puede estar asociado el agotamiento celular como posible fallo inmunológico. El agotamiento de las células NK que aparece en enfermos con COVID-19 con mala evolución con estimulación de receptores inhibidores de las células del sistema inmunitario es semejante al que aparece en el cáncer. Dado que una buena respuesta del sistema inmunitario resulta decisiva para un control correcto de la infección también se especula sobre la utilidad de tratamientos de inmunoterapia en el mismo sentido que se están ensayando con gran éxito en el cáncer⁹. Tratamientos inmunomoduladores como el monalizumab, anticuerpo monoclonal contra el receptor NKG2A podrían activar las células NK y los linfocitos T citotóxicos y mejorar la respuesta. De la misma forma tratamientos con monoclonales anti PD-1 y anti-CTLA-4 así como dirigidos contra otras moléculas

activadoras o supresoras presentes en otras células del sistema inmunitario (TIM-3, LAG-3, TIGIT) podrían mejorar la eficacia de la eliminación del virus y evitar el desencadenamiento de la tormenta de citocinas¹⁰.

Se ha estimado la reducción de ciertas poblaciones celulares en los pacientes con COVID-19, Li y cols. cuantificaron la población de células citotóxicas CD3-CD56dimCD16+ que disminuyó significativamente, mientras que la CD3-CD56dimCD16-part aumentó significativamente en pacientes con COVID-19 grave. Más importante aún, se detectó una expresión elevada de moléculas reguladoras, como CD244 y muerte programada-1 (PD-1), en células NK y células T, así como una disminución de moléculas efectoras citotóxicas en suero, incluidas perforina y granzima A, en pacientes con COVID-19^{11,12}. Por lo que los indicios de que esta población del sistema inmune innato este relacionado con la severidad o mortalidad de los pacientes COVID-19

Es fundamental identificar los perfiles inmunes en pacientes con COVID-19, lo que podría abrir posibles estrategias de intervención y promover una mayor comprensión de la inmunopatología en pacientes hospitalizados infectados con SARS-CoV-2.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las células NK forman parte del sistema inmune innato tanto en la primera línea de defensa en la infección aguda como en la regulación de la respuesta inmune adaptativa. La inmunopatología de la COVID-19 se basa en la disregulación de la respuesta inmune innata y mediada por células. La alteración en los niveles de células NKs circulantes durante la COVID-19 podría asociarse con elevación de otros reactantes inflamatorios y finalmente impactar en la supervivencia de los pacientes.

JUSTIFICACIÓN

COVID-19 es una nueva infección viral ocasionada por el virus SARS CoV-2 y se ha vuelto un problema de salud pública en todo el mundo. Es crucial identificar los mecanismos moleculares de la respuesta inmune innata y adaptativa que permitan emplear un blanco terapéutico que disminuya la gran mortalidad que ha ocasionado esta pandemia. Las células natural killer son capaces de amplificar y modular la respuesta inmune frente a la infección por SARS-CoV-2. Por tal motivo el conocer el comportamiento de las células natural killer permitirá crear blancos moleculares alternativos para nuevos fármacos.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La distribución o frecuencia de células NK CD56dim o CD56bright en sangre periférica de pacientes con COVID-19 se relaciona con el desenlace de la enfermedad?

HIPÓTESIS

Ho: No aumentan los niveles de células NK que circulan en sangre periférica en pacientes mexicanos con COVID-19 y esto tendrá relación con la sobrevida del paciente.

Hi: Si aumentan los niveles de células NK que circulan en sangre periférica en pacientes mexicanos con COVID-19 y esto tendrá relación con la sobrevida del paciente.

OBJETIVOS

General.

Evaluar la asociación de la cantidad de células NK y sus subtipos en sangre periférica de pacientes con COVID-19 y el desenlace de la enfermedad.

Específicos.

1. Cuantificar las células NK totales en sangre de pacientes hospitalizados por COVID-19.
2. Determinar la frecuencia de los subtipos de células NK circulantes, ya sea CD56^{low} o CD56^{bright}, en pacientes con COVID-19.
3. Comparar la cantidad de células NK y sus subtipos en sangre periférica entre pacientes en estadio graves que fallecieron y sobrevivieron con COVID-19.
4. Establecer si existe asociación entre la cantidad de células NK y/o sus subtipos (“al momento de su hospitalización”) con la sobrevivencia de pacientes graves con COVID-19.

PACIENTES Y METODOS

Pacientes:

Pacientes adultos que ingresen con la sintomatología asociada a COVID-19 (fiebre ≥ 38 C, tos, fatiga, cefalea, disnea) a la UMAE Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, y que cuenten con prueba de RT-PCR positivo para SARS-CoV-2.

Métodos:

En nuestro modelo de muestreo no probabilístico de casos consecutivos de pacientes que cumplen con los criterios de selección y que acepten participar en el estudio (o los representantes legales) mediante consentimiento informado (con firma en la carta de consentimiento informado, ver Anexos), se realizó lo siguiente. Los pacientes con sintomatología de COVID-19 que acudieron a la UMAE fueron evaluados por los médicos encargados de Admisión Continua de Urgencias de pacientes con potencial infección por SARS-CoV2. El área de *Triage* respiratorio se diseñó como un circuito *lean health* con la finalidad de ser más eficiente el proceso de valoración clínica de los pacientes.

Diagnóstico molecular y seguimiento de la carga viral

Una vez hecho el diagnóstico clínico de presunción se tomó una muestra para diagnóstico molecular (RT-PCR). Por disposición oficial, las muestras de los pacientes sospechosos fueron enviadas a los laboratorios de vigilancia epidemiológica del IMSS quienes son los encargados y certificados institucionalmente para realizar el diagnóstico y reportar los casos. Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes que ingresaron a hospitalización en esta unidad

(UMAE HE CMN SXXI, IMSS). Las muestras iniciales se tomaron en pacientes sin resultado de RT-PCR, ya que la entrega del resultado duró 48 horas. Por lo que existió la posibilidad de tomar muestras en pacientes con resultados negativos.

Detección del virus SARS-CoV-2

El diagnóstico molecular se basó en la realización de una prueba de qRT-PCR de tamizaje y otra confirmatoria empleando los iniciadores y sondas diseñados por V. Corman y col. del Charité, Berlín (Anexos). El grupo de V. Corman diseñó tres juegos de iniciadores y sondas que permitieron la amplificación específica de fragmentos de los genes del virus SARS-CoV-2: gen RdRp (RNA Polimerasa dependiente de RNA), gen N (proteína de la nucleocápside) y gen E (proteína de la envoltura). La prueba de tamizaje se realizó empleando la región del gen E y la prueba confirmatoria se hizo utilizando los iniciadores para un gen alternativo como RdRp.

Toma de la muestra periférica

La toma de muestra de sangre se realizó por venopunción (o a través del catéter central en caso de contar con él); aproximadamente 2 tubos Vacutainer para extracción de sangre, con EDTA y sin EDTA, para obtención de suero y plasma, siguiendo los protocolos de protección para el paciente y para el personal médico (Anexo). La toma de muestra se realizó al ingreso. Las muestras para analitos solubles fueron alicuotadas y congeladas hasta su procesamiento. Se reclutaron personas sin enfermedad para contar con un grupo control de personas sanas.

La determinación de mediadores inflamatorios (analitos solubles) o análisis de células se realizó como a continuación se detalla.

DISEÑO DEL ESTUDIO

- Analítico.
- Transversal.
- Observacional.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

1. Pacientes adultos de ambos sexos, mayores de 16 años que ingresen a la UMAE Hospital de especialidades del CMN SXXI con diagnóstico de COVID-19 y que se corrobore mediante la prueba de RT-PCR

Criterios de no inclusión

1. Pacientes portadores de enfermedades inmunosupresoras: VIH+, Virus de Hepatitis C, inmunodeficiencias primarias, artritis reumatoide, lupus eritematoso y bajo tratamiento con inmunosupresores
2. Pacientes o representantes legales que no acepten participar en el estudio

Criterios de Eliminación

1. Pacientes que rechacen continuar participando en el estudio.
2. Pacientes con expediente incompleto.
3. Pacientes en los que no se logró efectuar la evaluación completa de la respuesta inflamatoria, serológica y celular.

TAMAÑO DE LA MUESTRA Y ANALISIS ESTADISTICO

Tamaño de la muestra:

Debido a las condiciones de la pandemia y el número de pacientes que recientemente se diagnostican, se consideró una muestra por conveniencia y se incluyeron a todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión de marzo a septiembre de 2020

Análisis estadístico:

Se utilizó estadística descriptiva con base a las variables de interés. Así para las variables categóricas se reportaron proporciones. Para variables cuantitativas discretas o continuas, se determinó la media, mediana, moda y desviación estándar. De acuerdo con su distribución y varianza, se determinó el uso de estadísticos paramétricos o no-paramétricos. Así el análisis comparativo entre las características sociodemográficas (hombre vs mujer), edad (categorías de edad), comorbilidades (enfermo vs no enfermo), gravedad; con la concentración de los biomarcadores inflamatorios, ya sea frecuencias, medias o distribuciones de poblaciones, se realizaron pruebas de hipótesis mediante t de Student ó U-Mann Whitney o ANOVA de 2 vías y post-prueba Bonferroni o Dunn cuando así correspondió. Se elaboraron los mejores modelos de regresión logística, para estimar el riesgo de ser positivo para SARS-CoV2, así como de su gravedad y de presentar mayor o menor incremento en la respuesta. Los resultados se procesaron utilizando Excel, GraphPad Prisma y el programa STATA v.14

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo	Definición conceptual	Definición operacional	Escala medición	Fuente de información
Edad	Cuantitativa continua	Tiempo en años a partir del nacimiento	Tiempo en años a partir del nacimiento	Años	Expediente clínico
Género	Cualitativa Nominal Dicotómica	Característica biológica que permite clasificar a los seres humanos en hombres o mujeres	masculino o femenino	0=hombre 1= mujer	Expediente clínico
Caso confirmado	Cualitativa Dicotómica	Persona que cumpla con la definición operacional de caso sospechoso y que cuente con diagnóstico confirmado por la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública	Positivo o negativo	Positivo o negativo a SARS CoV2	Expediente clínico/ o resultado del laboratorio reconocido a solicitud

		reconocidos por el InDRE			
SOFA (Secuencial Organ Failure Assessment Score)	Cuantitativa Discreta	Escala utilizada para la valoración de la severidad de disfunción orgánica, la cual involucra parámetros clínicos (Frecuencia arterial media y escala de Glasgow) y de laboratorio (Plaquetas, $\times 10^3 /\mu\text{L}$, Bilirubina, mg/dL, Creatinina, mg/Dl, etc.)	puntuación SOFA más alta está asociada con una mayor probabilidad de mortalidad	valores del 0 al 4	Expediente clínico
Índice de Masa Corporal (IMC)	Cualitativa continua	Indicador que marca la relación entre el peso y la talla de un individuo utilizado en la detección del sobrepeso y	Se calcula utilizando el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la talla en metros (kg/m^2)	IMC normal es de 18.5 a 24.9 sobrepeso o como un IMC igual o	Expediente clínico

		obesidad en adultos.		superior a 25 y la obesidad como un IMC igual o superior a 30	
Células NK	Cualitativa continua	Linfocito y componente importante del sistema inmunitario innato para la defensa del organismo.	Porcentaje de Células NK CD56dim o CD56bright	Cel/ml	Inmunofenotipo por citometría de flujo

ASPECTOS ETICOS

Para la realización del presente protocolo se solicitó la aprobación por el Comité de local de ética del HE del CMN "Siglo XXI" del IMSS (3601). Se consideró que los sujetos incluidos en este estudio tienen un riesgo mayor al mínimo, por lo que se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado antes de iniciar el estudio.

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 respetaron cabalmente los principios contenidos en el Código de Núremberg, 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 calificó para subordinarse a otras normas oficiales mexicanas específicas, ya que no utilizó 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.

Se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado a los sujetos sometidos a este estudio antes de iniciar el mismo (Anexo Carta de consentimiento).

La persona que solicitó dicho consentimiento fue el investigador principal y/o alguno de los colaboradores considerados como sub-investigadores.

Riesgo de la Investigación: Dado que este protocolo incluyó la toma de muestras sanguíneas, esta se clasificó con un riesgo tipo II (mayor que el mínimo), pero sólo se realizó en pacientes adultos.

Balance Riesgo/Beneficio: Dado que las determinaciones biológicas se hicieron en el laboratorio, donde la UIMIQ conto con las medidas de bioseguridad necesarias para ello, así como el manejo confidencial de los datos, y de que el procedimiento en los pacientes fue parte del manejo indicado por su padecimiento. El único riesgo fue el relacionado con la toma de sangre, la cual se realizó por un profesional con experiencia, los cuales se vieron altamente superados por el beneficio académico y social de la información a obtener.

Confidencialidad: Todos los pacientes que ingresaron al estudio fueron tratados con apego estricto de confidencialidad, quedando prohibida la divulgación de sus datos personales y médicos. Las hojas de recolección de datos (Anexo Recolección de datos) fueron mantenidas en resguardo en la UIMIQ de la UMAE Hospital de Especialidades del CMN SXXI y únicamente fueron utilizadas por los investigadores con los propósitos de la investigación en curso. En el expediente clínico del paciente se anotaron los datos clínicos relevantes para el seguimiento de su padecimiento y los resultados de laboratorio. Los reportes de la investigación, como los artículos publicados o presentaciones en congresos y foros académicos, no llevaron 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 correspondieron 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 con el protocolo de tratamiento de pacientes

con COVID-19 en la UMAE Hospital de Especialidades de CMN "Siglo XXI", acordes a la norma oficial mexicana vigente y la normativa del IMSS. Se invitó a participar a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y que exentn los criterios de exclusión o eliminación.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 11 pacientes admitidos en el área COVID-19 correspondiente al hospital, se recabaron los datos clínicos y laboratoriales mediante la hoja de recolección de datos utilizada en este protocolo, los pacientes fueron divididos en dos cortes, aquellos que mejoraron (n= 7) y los que fallecieron (n= 4) en la estancia hospitalaria analizados mediante estadística descriptiva con las pruebas de chi cuadrada o exacta de Fisher (Tabla 1). Las características clínicas que arrojaron significancia estadística se encuentra el IMC el cual fue menor para los decesos (26 ± 2) en comparación con los que mejoraron (29 ± 4) con una $p= 0.003$. En las comorbilidades incluidas en el protocolo aquellas que destacaron la hipertensión arterial siendo el 50 % de pacientes en el grupo de fallecidos que presentaban esta enfermedad ($p= 0.0024$), sin embargo, ninguno de ellos tenía obesidad ($p= <0.0001$). El análisis de los estudios de laboratorio no mostro ninguna diferencia significativa en estos dos grupos, ni en la cuantificación de NK totales y sus subtipos, pero si en la estancia hospitalaria ($p= 0.047$), en promedio los sobrevivientes requerían 12 días de atención hospitalaria, mientras que los fallecidos 18 y morían en el hospital. Todos los fallecidos presentaban temperatura superior a los 38°C al ingreso al hospital, mientras que los sobrevivientes no ($p= <0.0001$), dentro de los síntomas a destacar están, la tos, fatiga, disnea, congestión nasal, artralgias y diarrea con mayor predominio en los fallecidos.

Tabla 1. Datos demográficos y clínicos de Pacientes con COVID-19. Se realizaron análisis estadísticos mediante pruebas de chi-cuadrada (variables categóricas) o Mann-Whitney (variables continuas) ($\alpha = 0,05$). $p > 0.05$ *

VARIABLE	TOTAL(n=11)	SOBREVIDA(7)	DECESOS(4)	P
EDAD	55±13	50±12	65±10	0.1485
SEXO (%)	MASC: 54.5 FEM: 45.5	MASC: 57.1 FEM: 42.9	MASC: 50 FEM: 50	0.8190
PESO (Kg)	77±12	79±14	74±9	0.8909
IMC (Kg/m ²)	28±3	29±4	26±2	0.003
COMORBILIDADES (%)				
DM2	18.2	14.3	25	0.0496
HAS	36.4	28.6	50	0.0024
OBESIDAD	63.6	57.1	0	<0.0001
HALLAZGOS DE LAB (r)				
Leu (10X ⁹ /L)	6.7-11.5	6.76-10.36	5.87-13.6	0.3303
Hb (g/dL)	13.4-15.2	14.1-16.1	13.25-15.07	0.2758
Ht (%)	40.2-45.1	40.40-47.40	39.52-44.77	0.5485
PLT (SI)	214-538	204-288	232.25- 645.75	0.1636
NeuT (10X ⁹ /L)	5.83-10.11	5.83-9.51	4.94-11.15	0.3758
LinT (10X ⁹ /L)	0.54-1.43	0.54-1.43	0.53-1.38	0.5273
MonT (10X ⁹ /L)	0.28-0.55	0.28-0.55	0.17-0.77	0.9636
Bas (10X ⁹ /L)	0-0.01	0-0.01	0.0025-0.055	0.3717
FERRITINA (ng/mL)	434.55-1335	138-1441.5	836-1432	0.2857
CRP (mg/dL)	7.12-26.98	2.1-22.65	10.72-30.58	0.3429
PCT (SI)	0.08-0.25	0.055-0.175	0.14-0.63	0.0556
DIMEROD (FEU/mL)	0.46-1.28	0.45-0.92	1.03-1.40	0.0727
FIBRINOGENO (mg/dL)	619-911	442-774	731-947	0.0727
CD56 ^{Low}	2.25-8.48	2.45-13.4	1.07-6.4	0.3152
IMFCD56	102-274	102-282	101-181	0.2303
CD56 ^{high}	93.28-98.18	84.3-97.7	93.98-98.62	0.1636
IMFCD56 ^{high}	1571-2181	1527-2141	1651-2742	0.6485
ESTANCIA (Dias)	14±5	12±14	18±5	0.0476
Temperatura (°C)	18.2	0	50	<0.0001
TOXICOMANIAS (%)	9.1	14.3	0	0.0001
SINTOMAS (%)				
TOS	63.6	57.1	75	0.0072
FATIGA	27.3	0	75	<0.0001
CEFALEA	45.5	42.9	50	0.3210
DISNEA	90.9	85.7	100	0.0001
CONGESTION	0	0	25	<0.0001

RINORREA	36.4	42.9	0	<0.0001
ARTRALGIAS	63.6	71.4	50	0.0024
MIALGIAS	90.9	100	75	<0.0001
ODINOFAGIA	27.3	42.9	0	<0.0001
DIARREA	18.2	0	50	<0.0001
SINTOMAS (Dias)	14±5	12±4	18±5	0.0476
EVOLUCIÓN				
SOFA	3.0-7.0	2-4	4.75-10.5	0.0182

La cuantificación de células NK totales y sus subtipos se realizaron mediante citometría de flujo, se encontró que los pacientes que fallecieron al día del ingreso tenían un menor porcentaje de células NK totales en comparación con los recuperados (Fig.1), mientras que los subtipos CD56^{Low} y CD56^{High}, no tienen diferencia estadística significativa.

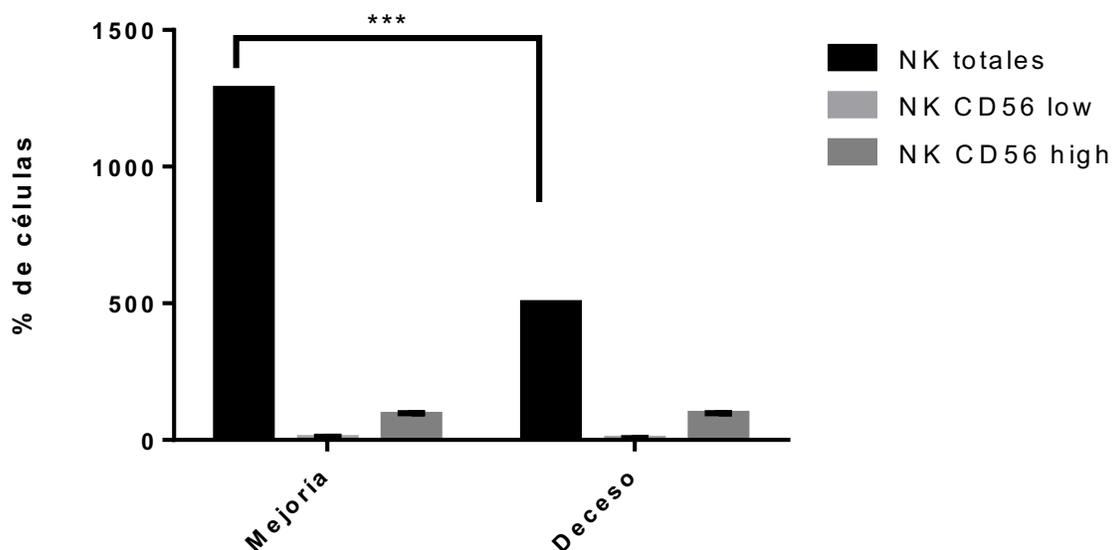


Figura 1. Cuantificación de células NK y subtipos en sangre periférica en pacientes graves COVID-19. Determinación del porcentaje de células NK totales, CD56^{low} y CD56^{high} por citometría de flujo, donde encontramos una importante diferencia entre los pacientes en mejoría y los decesos al día de ingreso al hospital. ANOVA de dos vías, seguida por una comparación múltiple de Sidak's, $p=0.001$.

Se realizó estadística inferencial entre las subpoblaciones de células NK para comparar las medias de muestras relacionadas con la prueba T de student, a este análisis se calculó el valor del coeficiente de Cohen's que nos proporciona el valor del tamaño del efecto de las subpoblaciones con respecto al desenlace de la enfermedad, en este caso para los recuperados y decesos y nos aporta información de que tanto efecto tienen la concentración de las subpoblaciones con que los pacientes sobrevivan. Como resultados obtuvimos que, ninguna variable es significativa, y el índice de Cohen nos muestra que las células NK CD56low, tienen un efecto bajo en el desenlace de la enfermedad, sin embargo, para las células NK CD56high muestran un efecto medio (0.658)en cuanto al desenlace, es decir la cantidad de células NK CD56high en sangre periférica a al día del ingreso a la hospitalización determinarían medianamente el desenlace del paciente entre recuperarse o fallecer (Tabla 2).

Tabla 2. Coeficiente de Cohen en las subpoblaciones de células NK con respecto al desenlace de la enfermedad

<i>Subpoblaciones de células NK</i>	<i>Agrupación</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>t-Student</i>	<i>p</i>	<i>Cohen</i>
CD56low	Mejoría	6.57	5.27	2.76	0.116	0.421
	Deceso	4.53	2.46			
CD56 high	Mejoría	92.23	5.61	4.011	0.064	0.658
	Deceso	9.59	2.11			

DISCUSIÓN

Durante esta crisis sanitaria los servicios de salud se han visto revesados en su capacidad de atención, y en gran parte por el desconocimiento del nuevo patógeno, lo que nos llevo a sumar esfuerzos para obtener información basada en evidencia sobre todo lo relacionado con el virus SARS-CoV-2, una de la parte crucial es la inmunopatología y desarrollo de la enfermedad para el mejor manejo de los pacientes, lo que llevo a la realización de este trabajo. Parte primordial de la respuesta inmune, es la respuesta innata donde encontramos a las células NK, que en otras enfermedades como, influenza A, herpes, dengue (13,14) se han visto como la principal respuesta rápida durante la etapa aguda de las infecciones. Estas células no solo tienen la capacidad de matar directamente al patógeno si no de influenciar respuesta de células T.

Reportes anteriores han observado una disminución de los niveles de células NK en sangre periférica en pacientes en estado grave y críticos (15, 16), además de sugerir por estudios de célula única que las células NK aumentan en el sitio de la infección (17,18). En nuestros resultados, que pertenecen solo a pacientes en estadio grave podemos observar una diferencia significativa en el porcentaje de células NK totales, lo cual concuerda con lo ya publicado, podemos asumir que las personas fallecidas tienen menos células NK en la periferia que los sobrevivientes. En cuanto a los subtipos no se han encontrado diferencias entre los pacientes y sus estadios, al igual que en este estudio, sin embargo, al compararlo con un grupo de voluntarios sanos encontraron as dos subpoblaciones recudidas en los pacientes COVID-19 sin diferencia entre grupos de gravedad (19,20).

Otro de los objetivos del estudio era correlacionar las células NK totales y subpoblaciones con el desenlace de la enfermedad, encontramos que las células CD56high tienen una moderada inferencia en la sobrevida de los pacientes, Maucourant y cols, realizaron un análisis de componentes principales de pacientes graves y críticos con los resultados de laboratorio y estos resultados se obtuvieron correlaciones como que la expresión de células CD56high y los niveles de IL-6 correlacionan positivamente, así como con el indicador de SOFA y consideran a estas subpoblaciones como un predictor de severidad. Lo que sustenta nuestros resultados al obtener una moderada implicación de estas células con el desenlace de la enfermedad.

El pulmón está enriquecido con células NK a diferencia de sangre periférica, como perspectivas de este estudio, se podrían hacer estudios de cuantificación de estas células en biopsias de pacientes COVID-19 y relacionarlas con la evolución de la enfermedad y así elucidar y rol inmunológico que tienen estas células en el sitio diana del virus. Además de ensayos de funcionalidad en las células provenientes de sangre periférica.

COVID-19 se caracteriza por componentes de una respuesta inmune desproporcionada a la infección por SARS CoV-2. Hasta el momento no se han logrado dilucidar todos los mecanismos que participan en la respuesta inmune del huésped frente al virus. Entender con más detalles la interrelación entre la respuesta inmune innata, adaptativa y SARS CoV-2 será indispensable para favorecer el desenlace del paciente y en las intervenciones terapéuticas que modulen la enfermedad y eviten desenlaces adversos.

CONCLUSIÓN

La cuantificación de células NK CD56^{High} en pacientes con COVID-19 grave al ingreso al hospital funciona como un valor pronóstico moderado sobre el desenlace de la enfermedad y mejora la atención médica traslacional.

BIBLIOGRAFÍA

1. Liu J, Zheng X, Tong Q, et al. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. *J Med Virol* 2020.
2. Chan JF, Yuan S, Kok KH, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* 2020;395:514-23.
3. Zhou F. Articles1054 www.thelancet.com Vol 395 March 28, 2020 Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020;395:1054-62.
4. Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, et al. World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *Int J Surg* 2020;76:71-6.
5. Imai Y, Kuba K, Rao S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 2005;436:112-6.
6. Imai Y, Kuba K, Penninger JM. The discovery of angiotensin-converting enzyme 2 and its role in acute lung injury in mice. *Exp Physiol* 2008;93:543-8.
7. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol* 2017;39:529-39.
8. Zheng M, Gao Y, Wang G et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell. Mol. Immunol.* 2020; 17:533–535.
9. Vardhana SA, Wolchok JD; The many faces of the anti-COVID immune response. *J Exp Med* 2020; 217 (6): e20200678.
10. Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nature Rev Immunol.* 2020; 20(5): 269-270.
11. Vabret N, Britton GJ, Gruber C et al. Immunology of COVID-19: Current state of the science. *Immunity* 2020; 52(6): 910-941.
12. Vabret, N., Britton, G. J., Gruber, C., Hegde, S., Kim, J., Kuksin, M., ... & Project, T. S. I. R. (2020). Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity*.

13. C. A. Biron, K. S. Byron, J. L. Sullivan, Severe herpesvirus infections in an adolescent without natural killer cells. *N. Engl. J. Med.* 320, 1731–1735 (1989).
14. J. S. Orange, Human natural killer cell deficiencies. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 6, 399–409 (2006)
15. A. J. Wilk, A. Rustagi, N. Q. Zhao, J. Roque, G. J. Martínez-Colón, J. L. McKechnie, G. T. Ivison, T. Ranganath, R. Vergara, T. Hollis, L. J. Simpson, P. Grant, A. Subramanian, A. J. Rogers, C. A. Blish, A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID-19. *Nat. Med.* 26, 1070–1076 (2020)
16. F. Wang, J. Nie, H. Wang, Q. Zhao, Y. Xiong, L. Deng, S. Song, Z. Ma, P. Mo, Y. Zhang, Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J. Infect. Dis.* 221, 1762–1769 (2020).
17. M. Liao, Y. Liu, J. Yuan, Y. Wen, G. Xu, J. Zhao, L. Cheng, J. Li, X. Wang, F. Wang, L. Liu, I. Amit, S. Zhang, Z. Zhang, Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat. Med.* 26, 842–844 (2020).
18. R. L. Chua, S. Lukassen, S. Trump, B. P. Hennig, D. Wendisch, F. Pott, O. Debnath, L. Thürmann, F. Kurth, M. T. Völker, J. Kazmierski, B. Timmermann, S. Twardziok, S. Schneider, F. Machleidt, H. Müller-Redetzky, M. Maier, A. Krannich, S. Schmidt, F. Balzer, J. Liebig, J. Loske, N. Suttorp, J. Eils, N. Ishaque, U. G. Liebert, C. von Kalle, A. Hocke, M. Witzzenrath, C. Goffinet, C. Drosten, S. Laudi, I. Lehmann, C. Conrad, L. E. Sander, R. Eils, COVID-19 severity correlates with airway epithelium–immune cell interactions identified by single-cell analysis. *Nat. Biotechnol.* 38, 970–979 (2020)
19. Maucourant, C., Filipovic, I., Ponzetta, A., Aleman, S., Cornillet, M., Hertwig, L., ... & Björkström, N. K. (2020). Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. *Science immunology*, 5(50).
20. Alrubayyi, A. NK cells in COVID-19: protectors or opponents?. *Nat Rev Immunol* 20, 520 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0408-0>

ANEXOS

Anexo 1. 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 para participación en
protocolos de investigación (adultos)**

Nombre del estudio:	“Niveles de células NK CD56dim o CD56bright en sangre periférica en pacientes con COVID-19 influyen en el desenlace de la enfermedad”
Patrocinador externo (si aplica):	NO APLICA
Lugar y fecha:	
Número de registro institucional:	
Justificación y objetivo del estudio:	<p>A usted se le invita a participar en este estudio por que cumple con los criterios de inclusión, que dentro de ellos es presentar la enfermedad COVID-19, generada por el virus SARS-CoV2 (Coronavirus).</p> <p>Nuestro objetivo es conocer si un tipo de células de defensa (linfocitos T) y los niveles de anticuerpos llamados IgG (unas moléculas que se elevan durante la infección), se asocian con el desenlace de la enfermedad.</p> <p>Al igual que usted, otras personas más serán invitadas a participar. Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Por favor lea la información que le proporcionamos, y haga las preguntas que desee antes de decidir si desea o no participar.</p>
Procedimientos:	<p>Si usted acepta participar ocurrirá lo siguiente:</p> <p>Le pediremos que nos permita tomarle de su brazo dos muestras de sangre, una al inicio de su evaluación por el servicio de emergencia/urgencias. La cantidad de sangre que le tomaremos en cada ocasión equivale a una cucharada sopera regular (6mL). También requerimos que nos otorgue autorización para tomar algunos datos de su expediente clínico que nos permitan saber detalles del proceso infeccioso.</p> <p>De cada una la muestra de sangre, tomaremos una pequeña parte y la pondremos en contacto con moléculas (anticuerpos sintéticos) que al unirse o no a las células (linfocitos) en su sangre indican el tipo de célula, conjuntamente, se medirán la cantidad de anticuerpos que ha producido en respuesta a la infección.</p>
Posibles riesgos y molestias:	<p>Dolor o moretón en el brazo donde entra la aguja para tomar la sangre. En este estudio más allá del dolor mínimo asociado con la toma de sangre, las molestias son la</p>

recopilación de la información mediante el cuestionario y la toma de signos vitales. La información recopilada de su expediente clínico será tomada bajo absoluta reserva y no se manipularán sus datos personales ya que no son necesarios para el análisis.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:

Aunque directamente no obtendrá ningún beneficio de los datos obtenidos, estos permitirán verificar si la activación de las células mieloides pueden o no servir como indicadores de los pacientes a complicarse o resolver más rápido la enfermedad y orientar la vigilancia selectivamente en un futuro para otras personas que lleguen a padecer de COVID-19 o enfermedades parecidas.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:

Usted recibirá el tratamiento adecuado para resolver la infección respiratoria que padece, independientemente que resulte ser por COVID-19 u otro agente infeccioso diferente a SARS CoV2, en el remoto caso de presentarse complicaciones asociadas a su participación en el presente estudio, el IMSS otorgará y cubrirá todas las atenciones requeridas.

Si a Usted le interesan conocer sus resultados de lo que analizamos de su sangre y células de defensa, puede contactar al responsable del proyecto, el Dr. Constantino III Roberto López Macías al teléfono 55 56 276900 ext. 21476

Participación o retiro:

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS, se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS. Es decir, que, si usted no desea participar en el estudio, su decisión, no afectará su relación con el IMSS y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe del IMSS. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como paciente atendido en el IMSS. Para los fines de esta investigación sólo utilizaremos la información que usted nos ha brindado desde el momento en que acepto participar y hasta el momento en el cual nos haga saber que ya no desea participar.

Privacidad y confidencialidad:

La información que obtengamos de su expediente clínico será guardada de manera confidencial, para garantizar su privacidad. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias no se dará información que pudiera revelar su identidad. Su identidad será protegida y ocultada. Para proteger su identidad le asignaremos un número que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos.

Declaración de consentimiento:

Después de haber leído y habiéndome explicado todas mis dudas acerca de este estudio:

No acepto participar en el estudio.

Si acepto participar y que se tome la muestra solo para este estudio.

Si acepto participar y que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros, conservando su sangre hasta por seis meses tras lo cual se destruirá la misma.

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

Investigadora o Investigador Responsable: Dr. Eduardo Ferat Osorio, División de Investigación en Salud, Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica y Servicio de Gastrocirugía, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Tel: 56276900 ext. 21476

Colaboradores:

Dr. Ramón Espinosa Soto Teléfono: 5516224359

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comité Local de Ética de Investigación en Salud del 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: comité.eticainv@imss.gob.mx

Nombre y firma del participante

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio.

Clave: 2810-009-013

Anexo 2. Cronograma

	Bimestre 1	Bimestre 2	Bimestre 3	Bimestre 4
Diseño del protocolo	X			
Comité local	X			
Recolección de muestras, datos clínicos		X	X	X
Cuantificación de células NK por análisis de marcadores en leucocitos		X	X	X
Análisis de resultados				X
Redacción de trabajo escrito				X

Anexo 3. Hoja de recolección de datos

Nombre del paciente							
Número de afiliación							
Teléfono							
Edad							
Género		Masculino		Femenino			
Peso (kg)							
Talla (m)							
Comorbilidades	Comorbilidades (Índice de Charlson)						
	Diabetes	Si (1)	No (0)	Hipertensión Arterial	Si (1) No		
	Complicación crónica de DM	Si (1)	No (0)	Dislipidemia	Si (1) No		
	Enfermedad arterial periférica	Si (1)	No (0)	Insuficiencia cardiaca IV	Si (1) No		
	Enfermedad vascular cerebral	Si (1)	No (0)	Cardiopatía isquémica /IAM	Si (1) No		
	Demencia	Si (1)	No (0)	Insuficiencia renal crónica	Si (1) No		
	Epilepsia	Si (1)	No (0)	Insuficiencia hepática aguda	Si (1) No		
	Enf. Tejido conectivo	Si (1)	No (0)	Cirrosis hepática	Si (1) No		
	Hipotiroidismo	Si (1)	No (0)	Lupus	Si (1) No		
	inmunosupresión	Si (1)	No (0)	infección VIH /SIDA	Si (1) No		
	RCP previo a ingreso	Si (1)	No (0)	EPOC	Si (1) No		
	Linfoma	Si (1)	No (0)	Leucemia	Si (1) No		
	Tumor solido	Si (1)	No (0)	Úlcera gastroduodenal	Si (1) No		
	Tabaquismo	Si (1)	No (0)	Exposición humo	Si (1) No		
	Medicación Crónica						
Diagnóstico de ingreso							
Fecha ingreso a TRIAGE							
Fecha de ingreso a unidad COVID							
Fecha de inicio de síntomas							
Síntomas iniciales		Si	No		Si		
Otros síntomas	Fiebre			Fatiga			
	Disnea			Diarrea			
	Tos			Náuseas			
	Rinorrea			Hiposmia/anosmia			
	Expectoración			Artralgias			
	Mialgias			Cefalea			
	Artralgias			Dolor torácico			
	Disgeusia			Otros, especifique			
Laboratorios	Parámetro		Ingreso		Días 3-7		Día
	Hemoglobina						
	Leucocitos totales						
	Linfocitos totales						
	Neutrófilos totales						
	Plaquetas						
	Creatinina						
	Glucosa						
	Bilirubinas totales						
	DHL						
	Proteína C reactiva						
	Procalcitonina						
	Dímero D						
	Fibrinógeno						
	CK total						
Uresis (ml/kg/hora)							
Lactato							

Anexo 4. Carta de Bioseguridad

CARTA DE ANUENCIA POR EL COMITÉ DE BIOSEGURIDAD PARA EFECTUAR EL ESTUDIO, CON IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD

Quien suscribe Dr. Eduardo Ferat Osorio con número de matrícula 874301, adscrito a la División de Investigación, y Servicio de Gastrocirugía del Hospital de Especialidades “Dr Bernardo Sepúlveda Gutiérrez”, Centro Médico Nacional “Siglo XXI”, hace constar que el protocolo titulado: “Asociación de niveles séricos de quimiocinas con el desenlace y días de estancia hospitalaria de pacientes con Síndrome Agudo Respiratorio Severo por COVID19”, del cual es responsable, TIENE IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD debido a que se trabajará con (marcar las opciones que apliquen):

(X) Material biológico infecto-contagioso: **Tejido sanguíneo de pacientes con COVID19**

() Cepas patógenas de bacterias o parásitos: __ (bacteria o parásito) _____ _

() Virus: __ (virus) _____

() Material radiactivo: __ (radioisótopo(s)) _____

() Animales y/o células y/o vegetales genéticamente modificados: (tipo de material) _____

() Sustancias tóxicas, peligrosas o explosivas: (tipo de material) _____

() Material que puede poner en riesgo la salud o la integridad física del personal de salud o los derechohabientes del IMSS o afectar al medio ambiente: _____ (tipo de material) _____

() Animales (de laboratorio, granja o vida silvestre): _____

() Trasplante de células, tejidos u órganos _____

() Terapia celular _____

Asimismo, declara que conoce, ha leído y cumplirá las normas, reglamentos y manuales de bioseguridad que apliquen al proyecto (consultar: “Bioseguridad en la Investigación en Salud” de la página web de la Coordinación de Investigación en Salud del I.M.S.S.)

(Enlistar los documentos que apliquen):

- a) NOM-087-ECOL-SSA1-2002, aplicando todas las especificaciones descritas para la protección de los binomios ambiental-salud, ambiental-residuos peligrosos, así como el manejo y clasificación de Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos (RPBI) de manera adecuada, por lo cual esta normatividad será respetada en su totalidad en la presente propuesta de investigación.

También manifiesta que existe evidencia documental auditable de que:

- a) Se cuenta con los permisos y/o licencias oficiales que se requieran para llevar a cabo el trabajo propuesto.
b) Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encuentran en estado satisfactorio de operación y son adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto.
c) El equipo a utilizar se encuentra en estado satisfactorio de operación.
d) Existen dispositivos personales de protección que se encuentran en estado satisfactorio de operación.
e) Los involucrados en el proyecto, incluyendo a los estudiantes que participen en el mismo, han recibido la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente.
f) Se mantendrán las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto y que el protocolo se suspenderá en caso de haber alguna irregularidad.



Dr. Eduardo Ferat Osorio

Investigador Titular A.

División de Investigación en Salud, Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica y Servicio de Gastrocirugía

Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.

Tel: 56276900 ext. 21476

Correo electrónico: eduardoferat@me.com