



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN SUR DE LA CIUDAD DE MÉXICO**

**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
“DR. BERNARDO SEPÚLVEDA GUTIÉRREZ”**

**DETERMINACIÓN DE ALTERACIONES EN LA INMUNIDAD CELULAR POR
INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES CON MUCORMICOSIS ATENDIDOS EN
UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

PRESENTA:

LUIS MANUEL BORGES LÓPEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DRA. MAURA ESTELA NOYOLA GARCÍA

CO-TUTOR DE TESIS:

DRA. ALEJANDRA ALBARRÁN SÁNCHEZ

CD. MX. 2023





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



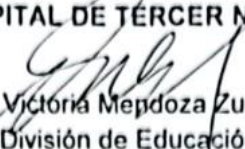
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

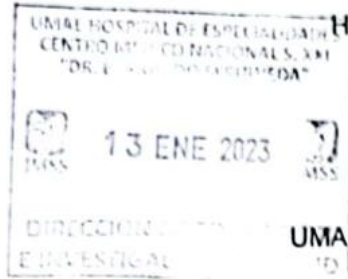
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

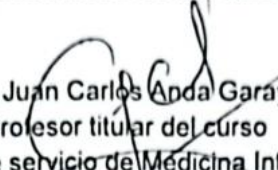
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

**DETERMINACIÓN DE ALTERACIONES EN LA INMUNIDAD CELULAR POR
INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES CON MUCORMICOSIS ATENDIDOS EN UN
HOSPITAL DE TERCER NIVEL.**

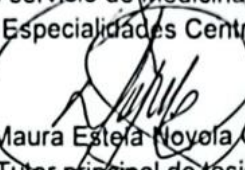

Dra. Victoria Mendoza Zubieta
Jefe de la División de Educación en Salud

Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI





Dr. Juan Carlos Anda Garay
Profesor titular del curso
Jefe de servicio de Medicina Interna


UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI

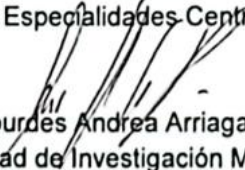

Dra. Maura Estera Noyola Garcia
Tutor principal de tesis


Médico adscrito al servicio de Medicina Interna
UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI


Dra. Alejandra Albarrán Sánchez
Co-Tutor de tesis

Médico adscrito al servicio de Medicina Interna
UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI


Dra. Patricia María O'Farrill Romanillos
Médico adscrito y profesora del curso de Inmunología y Alergia
UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI


Dra. Lourdes Andrea Arriaga Pizano
Investigadora de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica
UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI


Dra. Diana Andrea Herrera Sánchez
M.C adscrita y profesora del curso de Inmunología y Alergia
UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI



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 CONBIOÉTICA 09 CEI 023 2017082

FECHA Lunes, 01 de agosto de 2022

M.C. MAURA ESTELA NOYOLA GARCIA

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **DETERMINACIÓN DE ALTERACIONES EN LA INMUNIDAD CELULAR POR INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES CON MUCORMICOSIS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL**, 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 **A P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional

R-2022-3601-176

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 Garcia
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3601

Imprimir

IMSS

SEGURIDAD Y SALUD SOCIAL

DATOS DEL ALUMNO	
Apellido paterno:	Borges
Apellido materno:	López
Nombre:	Luis Manuel
Teléfono:	55 56276900 Ext. 21909
Correo electrónico:	borges7@live.com.mx
Universidad:	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad:	Facultad de Medicina
Carrera:	Medicina interna
Número de cuenta:	519229820
DATOS DE LOS TUTORES	
Tutor principal:	Dra. Maura Estela Noyola Garcia Maestra en ciencias, adscrita y profesora del curso de Medicina Interna en el Hospital de Especialidades CMN SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social Teléfono: 56276900 extensión 21909 Correo electrónico: mnoyola.g@gmail.com
Co-tutor:	Alejandra Albarrán Sánchez Maestra en ciencias, adscrita y profesora del curso de Medicina Interna en el Hospital de Especialidades CMN SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social Teléfono: 56276900 extensión 21909 Correo electrónico: albarranalejandra@gmail.com
DATOS DE LA TESIS	
Título:	DETERMINACIÓN DE ALTERACIONES EN LA INMUNIDAD CELULAR POR INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES CON MUCORMICOSIS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL.
Número de páginas:	49
Año:	2023
Número de registro:	R-2022-3601-176

ÍNDICE	
HOJA DE ABREVIATURAS	6
RESUMEN	8
JUSTIFICACIÓN	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	17
OBJETIVOS	18
MATERIAL Y MÉTODOS	18
Diseño del estudio	18
Universo de trabajo	18
Muestra	18
Criterios de selección de la muestra	19
DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO	20
TAMAÑO DE LA MUESTRA	33
Técnica de muestreo	33
CONSIDERACIONES ÉTICAS	34
RECURSOS, FINANCIAMIENTO, Y FACTIBILIDAD	35
RESULTADOS	36
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIÓN	38
TABLAS Y GRÁFICOS	39
BIBLIOGRAFÍA	45
ANEXO 1. Carta de consentimiento informado	48

HOJA DE ABREVIATURAS

- APC: antigen-presenting cells.
- aqp1: acuaporina 1.
- ARNi: ácido ribonucleico interferente
- cAMP: adenosin monofosfato cíclico.
- CAM: COVID-19 asociado a mucormicosis.
- CAPA: COVID-19 asociado a aspergilosis pulmonar.
- CD: cluster of differentiation.
- CMH-I: complejo mayor de histocompatibilidad de clase I.
- CMN: centro médico nacional.
- cotH: proteína de la cubierta de esporas.
- COVID-19: coronavirus disease 2019.
- Dr: doctor.
- Dra: doctora.
- DM2: diabetes mellitus tipo 2.
- EEUU: Estados Unidos.
- EGFR: factor de crecimiento epidérmico.
- ENSANUT 2018: encuesta nacional de salud 2018.
- ERC: enfermedad renal crónica.
- GM-CSF: factor estimulante de colonias macrófago-granulocitos.
- GRP78: proteína glucosa-regulada 78.
- HAS: hipertensión arterial sistémica.
- HbA1c: hemoglobina glucosilada.
- HE: Hospital de Especialidades.
- IFN γ : interferón gamma.
- IgA: inmunoglobulina A.
- IgE: inmunoglobulina E.
- IgG: inmunoglobulina G.
- IgM: inmunoglobulina M.
- IL-1B: interleucina 1B.
- IL-2: interleucina 2.
- IL-4: interleucina 4.
- IL-5: interleucina 5.
- IL-6: interleucina 6.
- IL-7: interleucina 7.
- IL-10: interleucina 10.
- IL-13: interleucina 13.
- IL-17: interleucina 17.
- IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social.
- NCRIP: non-canonical RNAi pathway.
- NETs: neutrophil extracellular traps.
- NK: natural killer.

- O₂: oxígeno.
- PAS: periodic acid-schiff.
- PCR: polimerase chain reaction.
- PDGFRB: receptor del factor de crecimiento B derivado de las plaquetas.
- PMN: polimorfonucleares.
- RANTES: Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted.
- RdRP: polimerasa dependiente de ARN.
- RMN: resonancia magnética.
- ROC: rino-orbito-cerebral.
- SARS-CoV: severe acute respiratory syndrome coronavirus
- SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.
- SIRA: síndrome de insuficiencia respiratoria aguda.
- SO₂: saturación de oxígeno.
- spp: especies.
- STAT1: signal transducer and activator of transcription.
- TAC: tomografía Axial Computarizada.
- TLR-2: receptor tipo Toll-2
- TLR-4: receptor tipo Toll-4
- Th1: linfocitos T helper 1.
- TNFa: factor de necrosis tumoral alfa.
- VIH: virus de inmunodeficiencia humana.
- UCI: unidad de cuidados intensivos.
- VSG: velocidad de sedimentación globular.

RESUMEN

Título: Determinación de alteraciones en la inmunidad celular por inmunofenotipo en pacientes con mucormicosis atendidos en un hospital de tercer nivel.

Introducción. La mucormicosis es una enfermedad que se produce por hongos del orden de los Mucorales, que se comportan como agentes oportunistas en pacientes inmunosuprimidos. Los factores de riesgo más frecuente son diabetes mellitus, tratamiento con corticoesteroides, trasplante de órgano sólido o médula ósea, neutropenia, trauma, quemaduras, neoplasias malignas hematológicas y la terapia con deferoxamina. En países como el nuestro, se presenta en pacientes con diabetes que afecta hasta el 10% de nuestra población. Nuestra unidad hospitalaria es un centro de referencia para atención de pacientes con mucormicosis, que tiene un alto riesgo de mortalidad, por lo que determinar la inmunidad celular permite conocer mejor esta enfermedad.

Objetivo. Determinar las alteraciones en la inmunidad celular por inmunofenotipo, en los pacientes con diagnóstico de mucormicosis en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Material y métodos. Estudio transversal, se incluyeron pacientes con Mucormicosis atendidos en el Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional siglo XXI a partir del 01 abril 2021 al 01 septiembre 2022, a todos se les realizó inmunofenotipo en sangre periférica.

Resultados. Se analizaron 17 pacientes, 58% fueron hombres, la mediana de edad fue de 54 años (RIC 47-64). La localización más frecuente fue rino-orbita-cerebral 76%. Las comorbilidades más frecuentes fueron diabetes mellitus 82%, hipertensión arterial sistémica 59%, sobrepeso u obesidad 53% y antecedente de COVID-19 41%. El 81% tuvo descontrol glucémico con HbA1c > 7.5%. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en el recuento de monocitos entre los pacientes con mucormicosis y COVID-19 $0.15 \times 10^3/\mu\text{L}$ vs $0.32 \times 10^3/\mu\text{L}$ respecto a los pacientes que no tuvieron COVID-19. Ambos grupos tuvieron un recuento en el límite inferior bajo de las células natural killer, 0.09 y $0.12 \times 10^3/\mu\text{L}$ respectivamente.

Conclusiones. La mucormicosis se presenta en pacientes con diabetes mellitus descontrolada y actualmente en pacientes con antecedente de COVID-19. En el inmunofenotipo de los pacientes con mucormicosis la cuenta de células NK es baja al igual que en otras infecciones micóticas.

Palabras clave. Mucormicosis, Inmunidad celular, Diabetes mellitus, Linfocitos, Monocitos, Células Natural Killer.

ANTECEDENTES

El primer caso descrito de mucormicosis en humanos fue informado en 1885 por Paltauf. La mucormicosis es una infección causada por hongos del orden de los Mucorales. *Rhizopus oryzae* es el organismo más comúnmente aislado en un 70% de todos los casos.^{1,2}

Los factores de riesgo más frecuentes para desarrollar mucormicosis incluyen diabetes mellitus descompensada, otras formas de acidosis metabólica, tratamiento con corticoesteroides, trasplante de órgano sólido o médula ósea, neutropenia, trauma y quemaduras, neoplasias malignas hematológicas, y la terapia con deferoxamina en pacientes que reciben hemodiálisis, también se ha documentado mutación por ganancia de función en STAT1.² A pesar de la terapia quirúrgica y el tratamiento anti fúngico la tasa de mortalidad general para mucormicosis permanece mayor al 50% y se incrementa hasta el 100% en pacientes con enfermedad diseminada o aquellos con neutropenia persistente.³

La pandemia de COVID-19 ha provocado más de 6 millones de muertes alrededor del mundo. Los glucocorticoides son fármacos que han probado ser beneficiosos en COVID-19, sin embargo, incrementan el riesgo de infecciones secundarias. La presencia de múltiples factores de riesgo o comorbilidades en pacientes con COVID-19, junto con la inmunosupresión adicional causada por glucocorticoides, incrementa el estado neto de inmunosupresión que contribuye a infecciones invasivas fúngicas.^{4,5}

Además de la hiperglucemia, una alteración en el metabolismo del hierro ocurre en pacientes con COVID-19 severo. COVID-19 es un síndrome hiper-ferritinémico, pero se desconoce si la ferritina elevada es un marcador de enfermedad sistémica severa o un modulador de la fisiopatología. Independientemente de su rol, los niveles de ferritina elevada, llevan a un exceso de hierro intracelular que genera especies reactivas de oxígeno que resulta en daño tisular.⁶

EPIDEMIOLOGÍA

En países en desarrollo, la mayoría de los casos de mucormicosis ocurren en personas con diabetes mellitus con pobre control o en sujetos inmunocompetentes posterior a un trauma. Si bien la predisposición genética determina en parte la susceptibilidad individual para padecer diabetes mellitus tipo 2, una dieta poco saludable y un estilo de vida sedentario son impulsores importantes de la actual epidemia mundial.⁷⁻⁹ La mortalidad asociada con mucormicosis invasiva es alta (30-50%), con una mortalidad de 90% asociada con enfermedad diseminada. La tasa de mortalidad disminuye a cerca de 10-30% entre pacientes con enfermedad cutánea localizada.⁷

Una serie que reportó 418 casos de mucormicosis y entoftoromicosis ocurridas en México de 1982 a 2016 encontró que el 72% de los pacientes eran diabéticos, la mortalidad fue de 51% y las especies de *Rhizopus* fueron las especies más aisladas.¹⁰ En un estudio retrospectivo de un hospital de tercer nivel en México, durante los años 1985 a 2019, se encontró que de 214 pacientes, la mediana de edad fue de 45 años, las enfermedades más asociadas fueron diabetes mellitus (76.6%) y neoplasias malinas hematológicas (15.4%), las 3 formas clínicas primarias fueron: rino-orbito-cerebral (75.9%), cutánea (8.4%) y pulmonar (7.47%), y los agentes más aislados fueron *Rhizopus arrhizus* (58.4%) y *Lichtheimia corymbifera* (12.3%).¹¹

AGENTE ETIOLÓGICO

La mucormicosis es una infección causada por un grupo de hongos filamentosos que pertenecen al orden de los Mucorales. El orden de los Mucorales comprende numerosos géneros (*Rhizopus*, *Mucor*, *Lichtheimia* [previamente *absidia*], *Rhizomucor*, *Cunninghamella*, *Apophysomyces spp.*, y *Saksenaee*). *Rhizopus* es el género más común asociado con mucormicosis, seguido de *Mucor* y *Lichtheimia*.⁷

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La enfermedad se puede clasificar en base a su localización anatómica en 6 formas: 1. Rino-orbito-cerebral (ROC), 2. Pulmonar, 3. Cutánea, 4. Gastrointestinal (GI), 5. Diseminada y 6. Mucormicosis de sitios inusuales. La presentación clínica más frecuente es rino-orbito-cerebral, mientras que la forma pulmonar es la menos común. En contraste, en pacientes con neoplasias malignas hematológicas, la enfermedad pulmonar y diseminada son más comunes.⁷ El involucro a peritoneo, tráquea, mediastino o hueso son raras. El abuso de drogas intravenosas es un factor de riesgo típico para endocarditis (de valva nativa o protésica) y absceso cerebral (con involucro típico de los ganglios basales) por Zygomycetos. Otras manifestaciones inusuales como otitis externa, infección corneal, y síndrome de vena cava superior se han reportado.¹²

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de mucormicosis se basa en histopatología y cultivos. Los Mucorales tienen una apariencia distintiva histopatológica, con hifas no septadas, irregulares que se ramifican en ángulos rectos. Los cultivos y la PCR son importantes para identificar el género.⁷

Pruebas de imagen. En pacientes con neoplasias malignas hematológicas y sospecha de mucormicosis pulmonar, se recomienda realizar una TAC de tórax. En pacientes diabéticos con dolor facial, sinusitis, proptosis, oftalmoplejía, o amaurosis de reciente diagnóstico, se recomienda realizar TAC y RMN de cráneo para determinar si existe sinusitis.¹³

Histopatología. Para confirmar una infección, se deben observar hifas no pigmentadas mostrando invasión con tinciones de hematoxilina y eosina, PAS o metamina-plata de Grocott-Gomori. Histopatológicamente las hifas de los Mucorales tienen un ancho de 6-16 μm , pero pueden alcanzar los 25 μm , y son no septadas o pauci-septadas. En los tejidos, las hifas aparentan cintas con un patrón irregular de ramificación. La ramificación descrita en ángulos de 90° de los Mucorales puede ser difícil de identificar en los tejidos debido a las presiones intersticiales ejercidas en el hongo por el tejido y alteraciones en la arquitectura de los tejidos durante el procesamiento. La aplicación de inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales disponibles de forma comercial o técnicas de PCR en tejidos frescos o incluidos en parafina y fijados con formalina han demostrado ser altamente específicos, aunque tienen una sensibilidad variable y no siempre están disponibles. Los cultivos se recomiendan para la identificación de género y especie, además para la determinación de susceptibilidad.¹³

TRATAMIENTO

La capacidad de tratar mucormicosis efectivamente depende de la disponibilidad de técnicas quirúrgicas y fármacos antifúngicos. Se recomienda realizar un tratamiento quirúrgico temprano siempre que sea posible, la resección y desbridamiento se deben repetir cuando se requiera. El uso de anfotericina B liposomal representa la primera línea de tratamiento para mucormicosis. Las dosis diarias van desde 1mg/Kg/día a 10mg/Kg/día. Isavuconazol y posaconazol han sido usados también de forma exitosa como fármacos de primera línea.¹³

PATOGÉNESIS

La inmunidad innata es "no específica" y comprende barreras como la piel y la mucosa respiratoria que previenen la entrada del microorganismo al huésped, las proteínas del complemento ayudan al reconocimiento por parte de las células efectoras inmunes, y las propias células efectoras inmunes actúan en una red compleja para combatir la invasión. Los Mucorales tienen la habilidad de atravesar las barreras físicas, principalmente la piel, a través de heridas traumáticas, y el intestino a través de la ingestión. En caso de que el patógeno se infiltre, la inmunidad innata actúa para detener la propagación de patógenos, resiste al establecimiento de la infección y dispara la repuesta de la inmunidad adaptativa. Después de atravesar exitosamente las barreras físicas, los Mucorales se encuentran con células del sistema de inmunidad innata, que incluye macrófagos, neutrófilos y células dendríticas. La habilidad de los Mucorales para establecer una enfermedad dentro de los huéspedes humanos inicia con el fracaso del sistema de inmunidad innata para eliminar las esporas del hongo, detener la germinación de los hongos y así limitar la expansión de la enfermedad. La terapia inmunosupresora deteriora las funciones fagocíticas inmunes e incrementa significativamente la susceptibilidad para infecciones invasivas micóticas.¹⁴ Se ha propuesto que la infección por Mucorales en un modelo de la larva del pez cebra se

controla por la formación de granulomas innatos, mientras que al mismo tiempo se induce a un estadio latente de infección que puede reactivarse por inmunosupresión.¹⁵

Respuesta de las esporas de Mucorales a la fagocitosis

La mucormicosis se inicia con el contacto de esporas asexuales con la piel o mucosa. La invasión tisular se previene en gran parte por las barreras físicas del sistema inmune innato, pero un defecto en las células inmunes efectoras o un daño en la piel o mucosas puede resultar en una infección por mucormicosis.¹⁶

Las células del sistema inmune innato disponen de muchas armas para bloquear la invasión fúngica, pero los hongos han desarrollado estrategias para contrarrestar este ataque. A pesar de que los macrófagos y neutrófilos son reclutados rápidamente al punto de la infección en modelos infectados de mamíferos, las esporas de Mucorales son fagocitadas predominantemente por macrófagos. Numerosos trabajos han analizado las respuestas de las esporas engullidas contra la fagocitosis, donde diferentes tipos de macrófagos se han analizado. Muchos patógenos micóticos, incluyendo a los Mucorales, han desarrollado mecanismos para evitar o sobrevivir a la confrontación con los macrófagos con diferentes estrategias. Un punto crítico en la invasión fúngica es la germinación para producir hifas que no pueden ser engullidas por los macrófagos debido a su tamaño. Por lo tanto, los macrófagos rápidamente engullen a las esporas una vez que éstas entran en contacto con el huésped, pero éstos son incapaces de eliminar las esporas de Mucorales, resultando en dos vías específicas para cada especie. En algunas especies como *R. oryzae* y *R. delemar*, la fagocitosis bloquea la germinación de esporas en reposo, permaneciendo viable dentro de los macrófagos alveolares en los pulmones de ratones inmunocompetentes al menos durante 10 días después de la infección. Se han observado esporas de Mucorales dentro de macrófagos en muestras histopatológicas humanas de especímenes quirúrgicos de un paciente con mucormicosis diseminada. La persistencia dentro del macrófago puede facilitar la diseminación de esporas. Otros Mucorales como especies de *Mucor*, son también resistentes a la fagocitosis, pero en este caso, éstos pueden germinar dentro del fagosoma y matar a los macrófagos "in vitro e in vivo". La infección de un pez cebra adulto con esporas de *M. circinelloides* induce muerte celular mediada por apoptosis en macrófagos, pero no en neutrófilos. En cambio, *R. oryzae* no induce apoptosis o necrosis de la célula hospedadora durante la interacción in vitro con macrófagos derivados de la médula ósea, sin embargo, induce la detención de la maduración del fagosoma por la vía del LAP (fagocitosis asociada a LC3), que es una de las principales vías antimicóticas que regula los eventos tempranos en la biogénesis del fagosoma de *Aspergillus fumigatus*. Similarmente, *Mucor* induce el bloqueo de la maduración del fagosoma en macrófagos de líneas celulares de murinos y en macrófagos derivados de la médula ósea, pero en este caso, depende de la vía de señalización de la calcineurina.¹⁶

Interacción de los Mucorales con las células del sistema inmune

Células epiteliales. Rodean la superficie exterior de la piel y los alveolos, y proporcionan la primera línea de contacto con los patógenos fúngicos. Los análisis transcriptómicos de la interacción de *L. corymbifera*, *R. oryzae*, *R. delemar*, y *C. bertholletiae* con cultivos de células epiteliales humanas (A-549) mostraron que la señalización del receptor del factor B de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFRB) era la principal respuesta de A-549 durante la infección con Mucorales. El bloqueo de PDFGRB redujo el daño de A-549 causado por Mucorales.¹⁷

Leucocitos polimorfonucleares (PMN) o neutrófilos. Juegan un rol importante al combatir al patógeno con la producción de citocinas y la formación de trampas extracelulares (NETs). Los factores quimiotácticos pueden tener un efecto en la respuesta inflamatoria de los neutrófilos a los Mucorales. Esos factores estaban disminuidos durante la cetoacidosis y la hiperglucemia llevando a una letalidad reducida de los neutrófilos contra las hifas de *R. oryzae*. Las hifas de *Rhizopus spp.* activan el receptor tipo Toll TLR2 y los genes proinflamatorios como IL-1B y al factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) en los neutrófilos. La investigación del papel de los receptores tipo Toll en combinación con anfotericina B liposomal en la interacción de neutrófilos con esporas, mostró que los neutrófilos redujeron la respuesta proinflamatoria al cambiar las vías de señalización de TLR-2 a TLR-4, lo que destaca la capacidad de los TLR para aumentar la actividad microbicida de los neutrófilos sin efecto de citotoxicidad. Los polimorfonucleares humanos exhiben una capacidad reducida para inducir daño oxidativo contra hifas no opsonizadas de aislamientos de Zygomycetos en comparación con hifas no opsonizadas de *A. fumigatus*. La eficacia atenuada de los polimorfonucleares humanos contra las hifas de Zygomycetos puede explicar en parte la alta patogenicidad de esos hongos.^{17, 18}

Células T. Son parte del sistema inmune adaptativo. Las células T Mucorales-específicas se encontraron sólo en pacientes que sufrieron mucormicosis pero no en otros pacientes que producían interleucinas (IL-4, IL-10, e IL-17) y IFN γ . El tratamiento de células T inactivadas con IL2, IL-7 o ambas, mejora la producción de células T específicas de Mucorales y sus citocinas IL-5, IL-10, IL-13, y también estimula la producción de linfocitos T CD4+ que son antígenos específicos de Mucorales.¹⁴ Poco se sabe acerca de la inmunidad celular contra los mucormicetos, sin embargo, la observación de que la mucormicosis ocurre en un número significativo de receptores de trasplante de células madre hematopoyéticas al mismo tiempo de que la neutropenia y la mucositis se ha resuelto, pero las respuestas de la inmunidad adaptativa se ven obstaculizadas, sugiere un rol potencial de las células T en la respuesta del huésped a los mucormicetos.²⁰

Células Natural Killer. Son linfocitos que contribuyen con la inmunidad contra patógenos al reducir la diseminación. Éstas células expresan varios receptores que pueden reconocer células infectadas e inhibir las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (CMH-1) que inhiben la activación de los receptores. Las natural killer pueden dañar a las hifas activadas de los Mucorales pero no pasa lo mismo con las hifas en reposo. Las hifas reducen la liberación de varias moléculas inmunomoduladoras (RANTES, IFN γ) secretadas por las NK.¹⁷

Plaquetas. Juegan un papel clave en reconocer y eliminar patógenos. Se adhieren a las esporas e hifas de los Mucorales pero causan daño en la estructura de las hifas. Además, el crecimiento de las hifas se ve disminuido en respuesta al contacto con las plaquetas.¹⁷

Células endoteliales. Son capaces de fagocitar y causar daño a las esporas de los Mucorales. La proteína glucosa-regulada 78 (GRP78) es un receptor presente en la superficie de las células endoteliales y puede reconocer específicamente especies de *Mucor* pero no otros patógenos como *A. fumigatus*. Además, GRP78 media la invasión y daño de las células endoteliales por los Mucorales.¹⁷

Células dendríticas. Son consideradas como un enlace entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa, ya que se pueden encontrar entre el epitelio y el intersticio. Éstas usualmente se trasladan al sitio de infección en respuesta a la liberación de antígenos microbianos lo cual mejora la respuesta inmune.¹⁷

EVALUACIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA Y CELULAR

Los estudios que son necesarios para iniciar la evaluación son una biometría hemática y estudios avanzados con citometría de flujo. Los glóbulos blancos que intervienen en la inmunidad innata son: monocitos (que se desarrollan en macrófagos), neutrófilos, eosinófilos, basófilos y células NK (linfocitos citolíticos naturales). Otros participantes que intervienen en la inmunidad innata son: mastocitos, sistema del complemento y citocinas.¹⁹

El conteo sanguíneo completo con diferencial y frotis de sangre, proporciona información del sistema inmunológico celular. El hallazgo de linfopenia transitoria está presente en una gran variedad de enfermedades infecciosas comunes. Sin embargo, si es linfopenia significativa y no corrige puede ser el primer indicio de inmunodeficiencia celular u otra enfermedad grave. En esos casos la citometría de flujo que evalúa las subpoblaciones de linfocitos debe realizarse.¹⁹

INMUNOFENOTIPO POR CITOMETRÍA DE FLUJO

Utiliza anticuerpos monoclonales para identificar y cuantificar células del sistema hematopoyético con antígenos específicos denominados grupos de diferenciación "CD", el panel utilizado puede identificar las subpoblaciones de linfocitos CD3, CD8, CD19, CD 20, CD 16 y CD 56. El análisis de la expresión de marcadores de células T naive (CD45RA) y memoria (CD45RO) es importante para la determinación de inmunodeficiencias combinadas.¹⁹

JUSTIFICACIÓN

La mucormicosis representa una enfermedad con alta mortalidad, que afecta a pacientes con comorbilidades que les confieren inmunosupresión, de las cuales la diabetes mellitus es la entidad más frecuentemente relacionada. En nuestro país, existía una población de 82.7 millones de 20 y más años, de acuerdo a la ENSANUT 2018, de los cuales el 10.3% tenía un diagnóstico previo de diabetes mellitus (11.4% mujeres y 9.1% hombres), siendo Campeche, Tamaulipas, Hidalgo, Ciudad de México y Nuevo León las 5 entidades con porcentajes más altos de población con diabetes mellitus.²¹ Nuestra unidad hospitalaria es un centro es referencia a nivel nacional para tratamiento de pacientes derechohabientes del IMSS con mucormicosis. Además, el aumento en la esperanza de vida y el incremento de la carga enfermedades crónico degenerativas como infecciones por VIH, ERC y neoplasias malignas hematológicas representan a un grupo importante de pacientes susceptibles de contraer infecciones oportunistas por hongos del orden de los Mucorales. El tratamiento de la mucormicosis más efectivo ha sido una combinación de antifúngicos con tratamiento quirúrgico, a pesar de ello, existe una gran morbi-mortalidad, por lo que conocer las principales alteraciones relacionadas con la inmunidad celular e innata puede proveer líneas de investigación para incidir de forma más importante en el tratamiento y poder incidir en la morbimortalidad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mucormicosis es una enfermedad infecciosa oportunista relacionada con enfermedades que causan inmunosupresión, principalmente alteraciones en la inmunidad celular e innata como: pacientes que padecen diabetes mellitus, neoplasias malignas hematológicas, infección por VIH, pacientes en tratamiento inmunosupresor por enfermedades autoinmunes, trasplante de células madre hematopoyéticas o de órgano sólido, últimamente antecedente de COVID-19 o haber recibido esteroideos para tratar esta enfermedad. Está relacionada con altas tasas de mortalidad a pesar de instaurar un tratamiento adecuado y oportuno. Existe poca información de los cambios en la inmunidad celular e innata en los pacientes que cursan con inmunosupresión debido a enfermedades crónicas o malignidad y coinfección con mucormicosis por lo que conocer mejor los factores asociados a esta infección es pertinente para mejorar el entendimiento de la fisiopatología de la enfermedad.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las alteraciones en la inmunidad celular por inmunofenotipo, que presentan los pacientes con mucormicosis internados en el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS?

OBJETIVOS

Objetivo general:

Describir las alteraciones en inmunidad celular por inmunofenotipo en pacientes con mucormicosis atendidos en el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Objetivos específicos:

- Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con mucormicosis rinocerebral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Tipo de estudio: transversal.

Por la manipulación de las variables por el investigador: observacional.

Por el número de mediciones realizadas durante el estudio: transversal.

Por la temporalidad: prospectivo.

Por la recolección de la información: prolectivo.

Universo de trabajo

Sujetos con diagnóstico de mucormicosis atendidos en el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Muestra

Sujetos con aislamiento de hongos de la orden *Mucorales* por el Departamento de Micología del Laboratorio Central del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del período comprendido del 01 de abril de 2021 al 01 de septiembre de 2022.

Criterios de selección de la muestra

Criterios de inclusión.

- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes de ambos sexos.
- Pacientes atendidos en el servicio de Medicina Interna con aislamiento reportado de hongos de la orden *Mucorales* por el Laboratorio Central del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Pacientes con medición de la inmunidad celular con inmunofenotipo por citometría de flujo en el Servicio de Alergia e Inmunología con apoyo de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica (UIMIQ), Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Criterios de exclusión.

- Pacientes que fallecieron o que no haya sido posible tomar muestra para determinación de inmunidad celular con inmunofenotipo e innata.

Criterios de eliminación.

- Pacientes con cambio de unidad hospitalaria

DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Previa aprobación por el Comité de Investigación en Salud y el Comité de Ética en Salud, se invitó a participar a los pacientes con diagnóstico confirmado de Mucormicosis que fueron internados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI, que cumplieron los criterios de selección, del 1 de abril de 2021 al 01 de septiembre del 2022. Al momento de aceptar participar en el estudio se tomaron muestras sanguíneas de 5 ml y muestras de laboratorio parte del manejo habitual, para la determinación de la inmunidad celular por inmunofenotipo con citometría de flujo. Estas muestras fueron procesadas en la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica (UIMIQU) Hospital de Especialidades, CMN "Siglo XXI" IMSS, que cuenta con la infraestructura para realizar el inmunofenotipo. No es un estudio que se realice de rutina en estos pacientes, pero se realiza en pacientes del Servicio de Alergia e Inmunología. En este protocolo la interpretación y reporte de resultados los realizó el servicio de Inmunología y Alergia por la Dra. Herrera y Dra. O'Farrill.

Procedimientos:

1. Invitación y firma de consentimiento informado. El alumno que obtuvo el grado de especialidad e investigadores explicaron dudas surgidas del consentimiento informado al participante.
2. Una vez firmado el consentimiento se registraron datos demográficos, comorbilidades, edad, sexo, diabetes mellitus tipo 2 descompensada, enfermedad renal crónica, cardiopatía, neumopatía, antecedente de COVID-19, trasplante sólido o hematológico, inmunosupresión, localización de la infección, tiempo de evolución al ingreso, tiempo de inicio del tratamiento posterior al diagnóstico, complicaciones: lesión renal aguda, estancia en terapia intensiva, días de estancia hospitalaria y desenlace (alta o muerte). Esta información fue recolectada del expediente clínico por un residente de Medicina Interna vinculado a este proyecto y se registró en hojas de captura de datos y en hoja excel y posteriormente fue analizada por las investigadoras, la Dra. Albarrán y la Dra. Noyola con el paquete SPSS.
3. Se tomó muestra sanguínea: 1 tubo de 5ml de sangre y fue procesada en la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica en resultados del inmunofenotipo por citometría de flujo.
4. Se registraron resultados de la citometría de flujo en una base datos. Éstos resultados fueron analizados previamente por médicos de Alergia e Inmunología.

Toma de la muestra de sangre periférica

La toma de muestra de sangre se realizó por venopunción (humeral o cubital); aproximadamente 5 mL de sangre que fueron recuperados en un tubo Vacutainer con Heparina de Litio como anticoagulante, siguiendo los protocolos de protección para el paciente y para el personal médico.

Inmunofenotipificación de leucocitos por citometría de flujo

La cuantificación de células se realizó como se detalla a continuación:

De la sangre total se tomó una pequeña alícuota (10 uL), se contaron las células a fin de verificar y registrar viabilidad y asegurar una suspensión de $4-5 \times 10^6$ células/mL. Se agregaron 50 μ L de esta suspensión celular a un tubo de autofluorescencia (AF) y a un tubo para inmunofenotipificación que contiene los siguientes anticuerpos: CD45 Pacific

Blue, CD4 PE-Cy7, CD8 APC, CD19 PerCP, CD16/56 APC-Cy7, CD3PE-Cy5, CD21/PE, IgM/FITC o CD38/PE, IgD/FITC. Pasados 15 min de incubación a temperatura ambiente y en oscuridad, se agregaron 250 µL de una dilución 1:10 de solución de lisis y fijado (BD FACSTM Lysing Solution) y se incubaron por 10 min a temperatura ambiente en oscuridad. Finalmente, las células se lavaron por centrifugación agregando 1 ml de PBS y posteriormente se suspendieron en 50 µL de solución isotónica. Se adquirieron al menos diez mil eventos del área de linfocitos utilizando un citómetro FACS ARIA IIu (BD™ Biosciences, San José, CA, USA). Las muestras se analizaron con un citómetro de flujo FACS Aria IIu (BD™ Biosciences, San José, CA, USA), que se encuentra en el Laboratorio Centro de Instrumentos/Citometría de Flujo de la Coordinación de Investigación en Salud, ubicado en la planta baja del Hospital de Especialidades CMN "Siglo XXI", del IMSS.

Algoritmo de análisis: para la identificación y caracterización de leucocitos circulantes se utilizaron los siguientes criterios:

Linfocitos T: $FSC^{low}SSC^{low} CD45^{hi}$, $CD3^{+}$,

- Linfocitos T cooperadores (Th): $FSC^{low}SSC^{low} CD45^{hi}$, $CD3^{+}$, $CD4^{+}CD8^{-}$
- Linfocitos T Citotóxicos (Tc): $FSC^{low}SSC^{low} CD45^{hi}$, $CD3^{+}$, $CD4^{-}$, $CD8^{+}$

Establecimiento de poblaciones T "vírgenes" ("naive") $CD45RA^{+}CD45RO^{-}$ o de memoria $CD45RA^{-}CD45RO^{+}$

- Linfocitos B: $FSC^{low}SSC^{low} CD45^{hi}$, $CD19^{+}$, $CD20^{+}$,
 - Subclasificación con: $CD21^{low}$, $CD38$, $CD27^{+} IgM^{+} IgD^{-}$, $CD27^{+} IgM^{-} IgD^{-}$
- NK: $FSC^{low}SSC^{low} CD45^{hi} CD16/56^{+}$

Además de respuesta de antígenos T independiente: respuesta a Ag polisacáridos, así como linfoproliferación y activación contra mitógenos, para valorar la respuesta celular.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

I. DEMOGRÁFICAS

Edad

Definición conceptual: lapso en años desde el nacimiento de un sujeto hasta un punto en específico en una línea temporal.

Definición operacional: edad en años consignada en la historia clínica, en el momento del ingreso del paciente a nuestra unidad.

Tipo de variable: cuantitativa discreta.

Unidad de medida: años.

Sexo

Definición conceptual: se refiere a las características biológicas y fisiológicas que definen al hombre y a la mujer.

Definición operacional: sexo atribuido como hombre o mujer en la historia clínica.

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Unidad de medida: 1. Hombre, 2. Mujer.

Peso

Definición conceptual: se refiere a la masa corporal de una persona medida en kilogramos.

Definición operacional: peso en kilogramos consignada en la historia clínica del paciente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidad de medida: kilogramos.

Talla

Definición conceptual: estatura o altura de las personas, medida desde la planta del pie hasta el vértice de la cabeza.

Definición operacional: estatura en metros del paciente, consignada en la historia clínica

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidad de medida: metros.

Procedencia

Definición conceptual: ciudad de residencia del paciente.

Definición operacional: lugar de residencia del paciente, referida en la historia clínica.

Tipo de variable: cualitativa ordinal.

Determinación: cualquier ciudad dentro o fuera de la República Mexicana.

II. CLÍNICAS

Diabetes mellitus tipo 2

Definición conceptual: enfermedad que se produce por una disminución en la producción de insulina por parte del páncreas o por una disminución en la sensibilidad que tiene ésta sobre los tejidos. Criterios diagnósticos: 1. Glucemia plasmática en ayuno ≥ 126 mg/dl, 2. HbA1c $\geq 6,5$ %, 3. Glucemia plasmática a las 2 horas de la prueba de sobrecarga oral a la glucosa ≥ 200 mg/dl, 4. Glucemia plasmática ≥ 200 mg/dl en pacientes con síntomas clásicos de hiperglucemia o crisis de hiperglucemia.

Definición operacional: presencia o ausencia de la enfermedad referida en la historia clínica.

Tipo de variable: cualitativa nominal

Escala de medición: presente: 0, ausente 1.

Descompensación aguda al ingreso

Definición conceptual:

- 1) Cetoacidosis diabética: presencia de glucemia > 250 mg/dL más acidosis metabólica y presencia de cuerpos cetónicos en plasma.
- 2) Estado hiperosmolar hiperglucémico: presencia de glucemia > 600 mg/dL, osmolaridad plasmática > 320 y cetoacidosis no significativa.
- 3) Hipoglucemia: es una condición que se caracteriza por niveles bajos de glucosa en la sangre, usualmente menos de 70 mg/dl.

Definición operacional: fue tomado del expediente y fueron: 0) ninguna 1) cetoacidosis diabética, 2) estado hiperosmolar hiperglucémico y 3) hipoglucemia.

Tipo de variable: cualitativa ordinal.

Escala de medición: 0,1, 2, 3.

Antecedente de neoplasia

Definición conceptual: padecimiento que supone el desarrollo de células neoplásicas malignas que forman un conglomerado o tumor, limitadas a un órgano en particular, con potencial proliferación y diseminación.

Definición operacional: tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Escala de medición: ausente: 0, presente:1.

Enfermedad renal crónica

Definición conceptual: daño estructural con alteración funcional del riñón por un período mayor a 3 meses, objetivado por imagen y por disminución de la tasa de filtración glomerular por analítica.

Definición operacional: tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Unidad de medida: 0=no 1 = sí.

Tx inmunosupresor

Definición conceptual: se consideró el consumo de esteroides, quimioterapéuticos, inmunosupresores de células T y neutropenia < 500 células/mm³. secundario al

decremento o inhibición de la función del sistema celular o humoral que resulta de un proceso farmacológico.

Definición operacional: antecedente de consumo de fármacos inmunosupresores (esteroides, quimioterapéuticos).

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Unidad de medida: 0=no 1 = sí.

COVID-19

Definición conceptual: enfermedad causada por el coronavirus conocido como SARS-CoV-2.

Definición operacional: antecedente de infección por el virus de SARS-CoV-2. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Unidad de medida: 0=no 1=sí.

Tiempo de diagnóstico de COVID-19

Definición conceptual: se refiere al momento en que se realizó el diagnóstico de COVID-19 respecto al momento de hospitalización del paciente en nuestra unidad.

Definición operacional: momento en el que se realizó el diagnóstico de COVID-19 referido en la historia clínica. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Unidades de medida: 0=admisión 1= previo 2= durante hospitalización 3= desconocido.

Fecha de PCR SARS-CoV-2

Definición conceptual: fecha en la que se reportó el estudio de PCR para SARS-CoV-2 como positiva o negativa.

Definición operacional: meses previo al internamiento de haber tenido prueba positiva para SARS CoV2. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa.

Unidades de medida: número de meses.

COVID-19 (grado de afección)

Definición conceptual: se refiere al grado de afección, clasificando en leve aquellos pacientes que no requieren O₂ y pueden permanecer en su domicilio; moderado aquellos pacientes que requieren hospitalización y aporte de O₂ con lo que logran una SO₂ >94%; severo aquellos pacientes que requieren hospitalización, aporte de O₂ y logran una SO₂ <94% con una frecuencia respiratoria >30 respiraciones por minuto, con infiltrados en más del 50% del parénquima pulmonar; y crítico aquellos pacientes con falla respiratoria y falla orgánica múltiple.

Definición operacional: grado de afección por COVID-19 de acuerdo con las variables de diagnóstico indicadas en guías nacionales e internacionales. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa ordinal.

Unidades de medida: 0= leve 1= moderado 2= severo 3= desconocido, 4= crítico.

Tratamiento con corticosteroides.

Definición conceptual: se refiere a la administración previa o indicación durante evolución intrahospitalaria de fármacos de tipo esteroide como: prednisona, metilprednisolona, hidrocortisona.

Definición operacional: antecedente de uso previo o administración durante hospitalización de esteroides. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Unidades de medida: 0=no 1=sí 2 = desconocido.

Dosis de esteroide acumulada

Definición conceptual: es la suma de la dosis total de un periodo de tratamiento con esteroides.

Definición operacional: se refiere a la cantidad total recibida de esteroides, previo y durante su hospitalización, se convertirá a su equivalente en Prednisona. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidad de medida: mg.

Coinfección con otro hongo

Definición conceptual: coinfección por otro hongo distinto al orden de los Mucorales durante su hospitalización.

Definición operacional: determinación por histopatología de coinfección con un hongo diferente a los Mucorales. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Unidad de medida: 0=no 1 =sí.

Tratamiento recibido

Definición conceptual: tratamiento farmacológico que se administra para una patología en específico.

Definición operacional: se refiere al tratamiento antifúngico recibido durante su hospitalización y al egreso.

Tipo de variable: cualitativa ordinal.

Unidad de medida: 1= anfotericina B convencional deoxicolato 2=Anfotericina B liposomal 3= posaconazol 4= caspofungina.

Cirugía

Definición conceptual: procedimiento manual o instrumentado, parcial o total, de lesiones causadas por enfermedades o accidentes.

Definición operacional: antecedente de procedimientos quirúrgicos realizados para desbridamiento o resección de tejidos infectados o desvitalizados. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Unidad de medida: 0=no 1 = sí.

Comorbilidades

Definición conceptual: otras condiciones patológicas que presente el paciente a su ingreso u hospitalización que no necesariamente estén relacionadas con su padecimiento actual.

- 1) HAS: cifras tensionales > 130/80 en más de 2 ocasiones o estar en tratamiento antihipertensivo.
- 2) Obesidad: índice de masa corporal mayor a 30 kg/m².
- 3) Cardiopatía: antecedente de infarto agudo del miocardio, arritmia, falla cardiaca, valorado por cardiología o estar en tratamiento médico.
- 4) Hipotiroidismo: disminución de hormonas tiroideas, documentado con pruebas de función tiroidea o estar en tratamiento de sustitución hormonal.

Definición operacional: comorbilidades referidas en la historia clínica. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Unidades : 0=no 1=sí.

III. CARACTERÍSTICAS DE INFECCIÓN POR MUCORMCOSIS

Tiempo de evolución de Mucormicosis.

Definición conceptual: tiempo determinado en días desde el inicio de los síntomas de un padecimiento hasta su diagnóstico.

Definición operacional: número de días desde el inicio de la sintomatología hasta su diagnóstico en nuestra unidad.

Tipo de variable: cuantitativa.

Unidad de medida: número de días.

Tiempo de ingreso al tratamiento

Definición conceptual: tiempo que transcurre en días desde el ingreso de un paciente a nuestra unidad hospitalaria hasta el momento de recibir un tratamiento para su padecimiento.

Definición operacional: número de días que transcurrieron desde el ingreso del paciente a nuestra unidad hasta el momento de iniciar tratamiento antifúngico/quirúrgico para su padecimiento. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa discreta.

Unidad de medida: número de días.

Tiempo de ingreso al alta/muerte

Definición conceptual: número de días que transcurrieron desde el ingreso de un paciente a una unidad hospitalaria, hasta la fecha de su egreso o su fallecimiento.

Definición operacional: número de días que transcurrieron desde el ingreso del paciente a nuestra unidad, hasta la fecha de su egreso o su fallecimiento según sea el caso. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa discreta.

Unidad de medida: número de días.

Localización de la afección micótica

Definición conceptual: sitio anatómico en el que se encuentra la infección por mucorales.

Definición operacional: sitio anatómico en el que se encuentra la infección por mucorales definida por tomografía/o resonancia magnética. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa ordinal.

Unidad de medida: 1. Rino-orbito-cerebral, 2. Senos paranasales, 3. Sino-orbital, 4. Pulmonar, 5. Gastrointestinal, 6. Piel, 7. Invasivo.

Estancia en la unidad de cuidados intensivos (UCI)

Definición conceptual: estancia dentro de la unidad de cuidados intensivos en el HE CMN SXXI en cualquier momento de su evolución.

Definición operacional: ameritó estancia en la unidad de cuidados intensivos. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa dicotómica.

Determinación: 0=no 1=sí.

Ventilación mecánica invasiva

Definición conceptual: es una ayuda artificial a la respiración que introduce gas en la vía aérea del paciente por medio de un sistema mecánico externo.

Definición operacional: antecedente de haber requerido ventilación mecánica. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cualitativa nominal.

Determinación: 0=no 1=sí.

IV. BIOQUÍMICAS

Glucosa

Definición conceptual: monosacárido formado por seis átomos de carbono y principal azúcar del que se derivan la mayoría de los glúcidos.

Definición operacional: niveles de glucosa sérica en mg al ingreso del paciente. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa.

Unidad de medida: mg/dL.

Hemoglobina glucosilada

Definición conceptual: fracción de la hemoglobina circulante que sufre glucosilación.

Definición operacional: valor relativo de glucosa adherida a hemoglobina determinado al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa discreta.

Unidad de medida: porcentaje %.

Leucocitos

Definición conceptual: son células blancas que forman parte del sistema inmunitario del cuerpo y ayudan a combatir infecciones y otras enfermedades.

Definición operacional: valor absoluto de leucocitos determinado por citometría hemática al ingreso del paciente. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidad de medida: células por $10^6/\mu\text{L}$.

Neutrófilos

Definición conceptual: son leucocitos, también llamados polimorfonucleares, que contienen gránulos con enzimas y otros agentes tóxicos involucrados en la defensa del huésped. Representan el tipo más abundante de leucocitos en la sangre y son células que actúan contra las infecciones, principalmente bacterianas.

Definición operacional: valor absoluto de neutrófilos determinado por citometría hemática al ingreso del paciente. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: células/ μL .

Linfocitos

Definición conceptual: los linfocitos son células blancas que participan principalmente en la inmunidad específica o adquirida, a excepción de los linfocitos T gamma-delta y los asesinos naturales, que son capaces de establecer contacto y eliminar directamente a un antígeno, durante la etapa de la inmunidad natural.

Definición operacional: valor absoluto de linfocitos determinado por citometría hemática al ingreso del paciente. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: células/ μL .

Eosinófilos

Definición conceptual: son granulocitos pequeños derivados de la médula ósea. Su núcleo es bilobulado y sus gránulos citoplasmáticos son distintivos, con proteínas granulares responsables de funciones proinflamatorias, principalmente en la patogénesis de las enfermedades alérgicas, como célula efectora de hipersensibilidad inmediata, así como en la muerte de parásitos.

Definición operacional: valor absoluto de eosinófilos determinado por citometría hemática al ingreso del paciente. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: células/ μL .

Plaquetas

Definición conceptual: son fragmentos de megacariocitos con un diámetro entre 2 y 4 μm y tienen una gran importancia en la coagulación de la sangre.

Definición operacional: valor absoluto de plaquetas determinado por citometría hemática al ingreso del paciente. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidad de medida: 10³/uL.

Creatinina

Definición conceptual: producto final del metabolismo de la creatina. Se encuentra en los músculos y en la sangre y se elimina por la orina.

Definición operacional: cifra en mg/dl tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: mg/dL.

Proteína C reactiva

Definición conceptual: globulina que con el polisacárido C de los neumococos da lugar a un precipitado. Esta proteína se produce en el hígado y se forma cuando se padece una inflamación o hay una degradación tisular.

Definición operacional: nivel de proteína C reactiva determinado al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: mg/dL.

Velocidad de sedimentación globular (VSG)

Definición conceptual: velocidad a la que los eritrocitos se depositan en la sangre no coagulada en el término de una y dos horas.

Definición operacional: nivel de VSG determinado al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: mm/hr.

Ferritina

Definición conceptual: proteína de depósito de hierro (proteína férrica) afín a la hemosiderina, constituida por una capa periférica de apoferritina y una micela central de óxido ferrohídrido. Es un indicador de los depósitos de hierro del organismo.

Definición operacional: nivel de ferritina determinado al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: ng/L.

Inmunoglobulinas

IgA

Definición conceptual: anticuerpos que aparecen fundamentalmente en secreciones, recubriendo mucosas expuestas al ataque de agentes patógenos externos.

Definición operacional: niveles de IgA al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: mg/dL.

IgM

Definición conceptual: anticuerpo que se encuentra principalmente en la sangre y en el líquido linfático, es el primer anticuerpo que se fabrica para combatir una nueva infección.

Definición operacional: niveles de IgM al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua

Unidades de medida: mg/dL.

IgG

Definición conceptual: es el anticuerpo más abundante del organismo. Se encuentra en la sangre y otros fluidos, y brinda protección contra infecciones por organismos extraños. Éste anticuerpo puede tardar en formarse después de una infección.

Definición operacional: niveles de IgG al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Unidades de medida: mg/dL.

IgE

Definición conceptual: son anticuerpos que se liberan al plasma por las células plasmáticas y son integrados en la membrana de otras células (mastocitos), participando en las reacciones de hipersensibilidad.

Definición operacional: niveles de IgE al ingreso a hospitalización. Tomado del expediente.

Tipo de variable: cuantitativa continua

Unidades de medida: mg/dL.

V. Inmunidad celular por inmunofenotipo. Determinación por citometría de flujo.

LINFOCITOS TOTALES CD3: (0.7-2.1)

Definición conceptual: linfocitos que expresan una molécula CD3 la cual tiene como función intervenir en la transducción de señales, expresión del receptor de linfocitos T en la superficie de la célula y asociación a éste último receptor.

Definición operacional: niveles de linfocitos CD3 determinados durante la hospitalización. Tomado del reporte de inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

LINFOCITOS CD4(0.3-1.4)

Definición conceptual: es un tipo de linfocito que ayuda a coordinar la respuesta inmunitaria al estimular a otros inmunocitos, como los macrófagos, los linfocitos B y los linfocitos T CD8 para combatir la infección.

Definición operacional: niveles de linfocitos CD4 determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

LINFOCITOS CD8(0.2-0.9)

Definición conceptual: están encargados de las funciones efectoras de la inmunidad celular. Neutralizan células infectadas por microorganismos intracelulares mediante un ataque directo a las células infectadas, a través de enzimas que provocan su destrucción.

Definición operacional: niveles de linfocitos CD8 determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

CÉLULAS NATURAL KILLER 16/56 (0.15-0.43)

Definición conceptual: son células que exhiben actividad espontánea contra células tumorales o células infectadas, particularmente por virus. Ellas se caracterizan por la expresión de las moléculas CD16 y CD56, y se subdividen en dos poblaciones, CD16Low/CD56Hi y CD16Hi/CD56Low, que difieren en las citoquinas que producen y en la capacidad citotóxica. La activación de las células NK está regulada por la expresión de receptores inhibidores y activadores que interactúan con diferentes ligandos de las células blanco.

Definición operacional: niveles de células natural killer 16/56 determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm.

CD45RA (31-57%)

Definición conceptual: CD45 es el antígeno leucocitario común que está implicado en la transmisión de señales intercelulares T-B. Existen diferentes isoformas de CD45 cuya expresión en la superficie de linfocitos T cambia durante la diferenciación celular. La isoforma CD45RA, que caracteriza a las células T vírgenes, se pierde progresivamente al estimular los linfocitos y da paso a la expresión de CD45RO, asociada con los linfocitos T de memoria.

Definición operacional: niveles de linfocitos CD45RA determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

CD45RO (12-44%)

Definición conceptual: CD45 es el antígeno leucocitario común que está implicado en la transmisión de señales intercelulares T-B. Existen diferentes isoformas de CD45 cuya expresión en la superficie de linfocitos T cambia durante la diferenciación celular. La isoforma CD45RA, que caracteriza a las células T vírgenes, se pierde progresivamente al estimular los linfocitos y da paso a la expresión de CD45RO, asociada con los linfocitos T de memoria.

Definición operacional: niveles de linfocitos CD45RO determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de Inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

LINFOCITOS B TOTALES

Definición conceptual: funcionan en el componente de inmunidad humoral del sistema inmunitario adaptativo mediante la secreción de anticuerpos. Además, las células B presentan antígenos también se clasifican como células presentadoras de antígenos (APC, del inglés *antigen-presenting cells*) y secretan citocinas.

Definición operacional: cuenta de linfocitos B totales determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de Inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y el servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

LINFOCITOS B CD27:(10-15%)

Definición conceptual: son linfocitos de memoria que expresan una molécula de CD27 que es un miembro de la familia de receptores del factor de necrosis tumoral.

Definición operacional: niveles de linfocitos B CD27 determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de Inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

LINFOCITOS B CD38 2-5%

Definición conceptual: son linfocitos B que contienen la molécula de superficie CD38 que participa en procesos como la apoptosis, la proliferación.

Definición operacional: niveles de linfocitos B CD38 determinados en muestra sanguínea. Tomado del reporte de inmunofenotipo emitido por el laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cel/mm³.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinó el tipo de distribución de las variables con la prueba de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-wilks. Se reportaron datos cuantitativos con medidas de tendencia central y dispersión según distribución de las variables. Las variables de tipo cualitativo se reportaron en frecuencias absolutas y porcentajes. Se utilizó un paquete estadístico de IBM SPSS versión 23.0.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Muestreo no probabilístico de casos consecutivos. Se atienden aproximadamente 10-20 pacientes por mucormicosis al año en el servicio de Medicina Interna del Hospital de Especialidades CMN "Siglo XXI" del IMSS.

En el presente estudio fueron incluidos el total de sujetos con aislamiento de hongos de la orden *Mucorales* por el Departamento de Micología y con determinación de inmunidad celular por inmunofenotipo con citometría de flujo en colaboración con el Laboratorio de Inmunoquímica y servicio de Alergia e Inmunología del hospital en pacientes que cumplieron con criterios de inclusión del 01 de abril de 2021 al 01 de septiembre de 2022. Este estudio no se hace de rutina en este grupo de pacientes, sin embargo, el recurso está disponible para su determinación en el Hospital y se hizo a petición del servicio de Alergia e Inmunología, específicamente en el Laboratorio de Inmunoquímica del Hospital. No se requirió financiamiento ya que en esta unidad se contó con los recursos humanos y materiales necesarios.

Técnica de muestreo

No probabilístico, de casos consecutivos.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este protocolo se apegó a los lineamientos establecidos en la Declaración mundial de Helsinki 2013, el informe Belmont y a la Ley General de Salud en materia de investigación en seres humanos, en su título segundo, capítulo primero, artículo 16, artículo 17 fracción I, II, III y al instructivo para la operación de la comisión de investigación científica y de los comités locales de investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social.

- Riesgo de la investigación: de acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación en el título II, capítulo primero, artículo 17, este estudio se consideró de riesgo mínimo (categoría II del artículo 17 del reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud), ya que se realizaron determinaciones de inmunidad en muestras de sangre al ingreso al estudio del paciente previo consentimiento informado, que fue obtenido por médicos residentes de medicina interna del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, ajenos al equipo tratante.
- Posibles beneficios: No se obtuvo un beneficio directo para los participantes, el único beneficio fue de tipo científico.
- Balance riesgo/beneficio: mayor beneficio. El riesgo que le confirió la toma de muestras de sangre a los pacientes fue mínimo y el resto de información para fines del protocolo fue tomado del expediente clínico. El beneficio fue para fines científicos no hacia el paciente directamente. No se identificaron alteraciones relevantes para dar seguimiento por parte del servicio de Alergia e Inmunología. La atención del paciente no se vió afectada en ningún momento, el tratamiento estuvo a cargo del médico tratante ajeno a este protocolo.
- Confidencialidad: este estudio garantizó la confidencialidad de la información, todos los datos recolectados fueron de uso exclusivo del investigador principal. Los autores del presente protocolo declararon de manera unánime que todos los datos fueron de uso exclusivo para este protocolo y fueron manejados de forma confidencial, en ningún momento fue revelada la identidad del paciente y los resultados serán difundidos en foros de investigación y revista de investigación médica. Se garantizó no utilizar el nombre del paciente, sino un número de folio para identificar al mismo y no se divulgaron datos personales ni sensibles de los pacientes.
- Obtención del consentimiento informado: el consentimiento informado fue solicitado por un colaborador del protocolo al paciente. Éste colaborador fue ajeno al médico tratante. Se explicó ampliamente en qué consistía participar en este protocolo y se resolvieron todas las dudas. Se invitó a participar al estudio al paciente o familiar responsable y solo fue incluido posterior a la firma del consentimiento informado. La participación consistió en permitir registrar datos del expediente clínico, resultados de laboratorio y toma de una muestra sanguínea de 5 ml para procesamiento en el Laboratorio de Inmunoquímica. El paciente tuvo acceso a su información y no obtuvo beneficio económico.

RECURSOS, FINANCIAMIENTO, Y FACTIBILIDAD

Recursos humanos

Los investigadores en este protocolo tienen amplia experiencia en investigación clínica. En la Unidad de Investigación de Inmunoquímica del mismo hospital, se cuenta con la experiencia, reactivos y la infraestructura para la realización de la inmunofenotipificación de leucocitos de sangre periférica de acuerdo a las buenas prácticas de laboratorio. En esta misma UMAE se cuenta con el Laboratorio Centro de Instrumentos- Citometría de Flujo de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS, que posee citómetros para analizar el panel propuesto y personal calificado para su utilización.

El material necesario para la recolección de datos fue de fácil obtención y el investigador contó con un equipo de cómputo portátil, en el que se realizó el análisis estadístico de la información.

Las investigadoras del servicio de Inmunología y Alergia cuentan con la formación y experiencia en la interpretación de inmunidad celular por inmunofenotipo. El servicio de Medicina Interna donde se realizó el estudio, tiene amplia experiencia en la atención de pacientes con Mucormicosis y la interacción con todos los servicios involucrados en la atención del paciente.

Recursos financieros

La determinación del inmunofenotipo por citometría de flujo es un estudio que se no se realiza de forma rutinaria en el tratamiento de pacientes con mucormicosis, no requirió financiamiento, ya que el hospital contó con todos los recursos necesarios para realizar este proyecto.

Factibilidad

Nuestra unidad médica de atención al fungir como centro de referencia a nivel nacional presenta un riesgo de selección de muestra para diferentes tipos de patología de frecuencia baja, es por esto que patologías que son conocidas como infrecuentes pueden ser estudiadas en este tipo de centros de referencia. En este caso y con pertinencia para el objetivo del estudio, la población con infección por mucormicosis es frecuente en el presente. Por lo tanto, el proyecto fue factible de realizar, ya que la base de datos que se utilizó cuenta con la población de estudio y los recursos humanos para su atención.

RESULTADOS

Se analizaron 17 casos con expedientes completos, 58% fueron hombres, la mediana de edad al diagnóstico fue de 54 años (RIC 47-64), ingresaron con 30 días de evolución (RIC 11-90) y la estancia hospitalaria fue de 45 días (RIC 38-72). La localización más frecuente fue rino-orbita-cerebral 76% y sinorbital 18%.

Las comorbilidades más frecuentes fueron diabetes 82%, la mediana de años con diabetes fue de 10 años (RIC 3-18), 12% fueron diagnosticados al ingreso y 6% cursó con cetoacidosis diabética. El 81% tenía una HbA1c > 7.5%, el 59 % tuvo hipertensión arterial sistémica, el 53% tuvieron sobrepeso u obesidad, el 6% enfermedad renal, el 12% cáncer sólido y ninguno presentó cáncer hematológico.

El 41% de los pacientes tuvieron COVID-19, de los cuales el 18% fue de presentación leve, 23% moderado y ninguno presentó COVID-19 severo. El 53% recibió tratamiento esteroide y el esteroide más recibido fue dexametasona 3 (17.6%), seguido de prednisona 2 (11.8%) y betametasona 2 (11.8%). *Gráfico 1.*

El tratamiento recibido fue anfotericina convencional (deoxicolato de sodio) en 16 pacientes (94%), seguido de anfotericina liposomal en 3 (18%) y anfotericina de complejo lipídico en 1 paciente (6%). Se trató con cirugía a 16 pacientes (94%) y se realizaron 8 maxilectomías y exploración de senos paranasales, 7 procedimientos de exenteración de ojo, 1 drenaje de absceso cerebral, 1 etmoidectomía y 1 paciente rechazó tratamiento quirúrgico. No hubo diferencia significativa entre pacientes con antecedente de COVID-19 en género, comorbilidades, control metabólico ni desenlaces, sólo en el grupo con antecedente de COVID-19 la dosis de prednisona recibida fue mayor 387 mg vs 125 mg en el grupo de pacientes sin antecedente de COVID-19 $p=0.024$. Las complicaciones más frecuentes fueron lesión renal aguda en 82%, evento vascular cerebral en 29%, 1 paciente (6%) requirió estancia en la unidad de cuidados intensivos y solo 1 paciente falleció (6%). *Tabla 1.*

Respecto a los pacientes a los que se les realizó inmunofenotipo, la única diferencia estadísticamente significativa fue en el recuento de monocitos entre los pacientes con COVID-19 $0.15 \times 10^3 /\mu\text{L}$ vs $0.32 \times 10^3 /\mu\text{L}$ en los pacientes que no tuvieron COVID-19 $p=0.003$, y un recuento en el límite inferior bajo de las células natural killer para ambos grupos, 0.09 y $0.12 \times 10^3 /\mu\text{L}$ respectivamente. *Tabla 2, Gráficos 2 y 3.*

DISCUSIÓN

En este estudio se observó que los pacientes con mucormicosis tuvieron recuentos en el límite inferior normal de células NK, no es posible determinar si esto es causa o efecto. La disminución del recuento o actividad de las células NK puede ser secundario al efecto que pueden ejercer los mucorales u otro tipo de hongos sobre ellas, a un epifenómeno o al proceso subyacente que llevó al paciente al estado de inmunodepresión (cáncer, trasplante, diabetes, esteroides).

Las células NK ejercen actividad directa antifúngica al liberar moléculas citotóxicas como perforina o granzima B y ejercen actividad antifúngica indirecta al modular a las células inmunes vía la producción de citocinas, incluyendo IFN- γ , TNF α , GM-CSF, y CCL5. Pueden producir daño a las hifas de *R. oryzae* al liberar perforinas. Sin embargo, esta especie de mucorales exhibe efectos inmunosupresores sobre las NK al reducir los niveles de producción de IFN- γ y la quimiocina proinflamatoria RANTES (CCL5), que promueve la quimiotaxis y la migración de células T y monocitos al sitio de infección.^{20, 21,}

²²

En pacientes sometidos a trasplante hematopoyético alogénico de células madre, se ha observado que los receptores de trasplantes que sufrieron de aspergilosis invasiva mostraron una recuperación insuficiente de células NK con recuentos celulares restantes inferiores a 200/ μ L, así como una menor producción de especies reactivas de oxígeno (ERO). Mientras que los que se curaron de aspergilosis invasiva tuvieron una producción significativamente mayor de ERO y mayores recuentos de células NK que aquellos que tuvieron un mal resultado de la infección micótica invasiva.²¹

En pacientes sometidos a trasplante de órganos sólidos, el análisis demostró que 1 mes después del trasplante, los pacientes que no desarrollaron enfermedad fúngica invasiva en un momento posterior tuvieron un recuento medio de células NK significativamente mayor en comparación con aquellos pacientes que desarrollaron enfermedad fúngica.²¹ En nuestro estudio no se incluyó ningún paciente con antecedente de trasplante de células hematopoyéticas u órgano sólido.

Se ha observado que los pacientes que padecen otras infecciones micóticas como candidiasis mucocutánea crónica (CMC) tienen una disminución tanto del número de células NK como de la actividad citotóxica, el impacto de las células NK en la patogenia de la infección o la progresión de la enfermedad es difícil de definir, ya que la inmunidad mediada por células también se ve afectada en pacientes con CMC.²¹

Varios estudios han demostrado que las mutaciones genéticas pueden conducir a un número reducido de células NK o deterioro funcional de las células NK, como mutaciones que afectan a los genes *IL2RG*, *JAK3* y *ADA* que causan síndromes graves de inmunodeficiencia combinada, o una mutación en el gen *ITGB2* asociada con la deficiencia de adhesión leucocitaria.²²

Respecto a los pacientes con mucormicosis con y sin antecedente de COVID-19 el análisis del inmunofenotipo demostró recuentos bajos de células NK, y más bajos de monocitos en aquellos con COVID-19. Lo anterior representa un campo de oportunidad para investigar a la infección por COVID-19 como factor de riesgo independiente al cual atribuir inmunosupresión y si el recuento bajo de células NK y monocitos representa una característica fenotípica de los pacientes con COVID-19 que desarrollan mucormicosis.

La Mucormicosis y COVID-19, que ha sido referida como CAM (Coronavirus disease 2019–associated mucormycosis), requiere mayor estudio especialmente en países con alta incidencia de diabetes y COVID-19 como el nuestro.²⁴

Al igual que en otros estudios la comorbilidad más frecuente fue la diabetes mellitus descontrolada, la presentación clínica más frecuente fue la rino-orbito-cerebral y la COVID-19 se presentó en 41% de los casos. Las limitaciones de este estudio fueron en primer lugar por el diseño del mismo, ya que algunos expedientes no estuvieron completos y el tamaño de la muestra de pacientes con COVID-19 y determinación de inmunofenotipo fue pequeña. En segundo lugar, no contamos con concentraciones de hierro séricas, que se han visto involucradas en la patogénesis de la mucormicosis. Por último, no es posible descartar alteraciones en la migración de neutrófilos y formación del fagolisosoma por el uso de corticoesteroides utilizados en nuestros pacientes con y sin COVID-19.^{23, 24}

Faltan estudios para poder explorar el papel que tiene la COVID-19 y corticoesteroides, asociados a diabetes mellitus descontrolada en la desregulación inmune y poder atribuir a esto el riesgo del incremento de casos de mucormicosis alrededor del mundo durante la pandemia de COVID-19. Si bien la mucormicosis es una enfermedad rara, la presentación es grave y la mortalidad es elevada, especialmente en países de bajos recursos. Conocer mejor la patogénesis de esta enfermedad puede en un futuro ayudar a identificar nuevos blancos terapéuticos.

CONCLUSIÓN

La mucormicosis se presenta en pacientes con diabetes mellitus descontrolada y actualmente en pacientes con antecedente de COVID- 19. En el inmunofenotipo de los pacientes con mucormicosis la cuenta de células NK fue baja al igual que en otras infecciones micóticas.

TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES CON MUCORMICOSIS

Características demográficas	
Hombre (%)	10 (58.8)
Edad, años (RIC)	54 (47-64)
Características clínicas	
Tiempo evolución, días	30 (11 -90)
Estancia hospitalaria, días	45 (38-72)
Peso (%)	
Bajo peso	1 (5.9)
Normal	7(41.2)
Sobrepeso	7(41.2)
Obesidad	2 (11.8)
Localización	
Rino- orbito-cerebral	13 (76.5)
Sinorbital	3 (17.9)
Sinusitis	5 (5.9)
Comorbilidades	
DM2	14 (82.4)
DM2 al internamiento	2 (11.8)
Cetoacidosis diabética	1 (5.9)
DM2 mal controlada HbA1c >7.5%	13 (81.3)
Años de DM2	10 (3-18)
HAS	10 (58.8)
Cáncer sólido	2 (11.8)
Cáncer hematológico	0
ERC	1 (5.9)
Etilismo	6 (35.3)
COVID	7 (41.2)
Leve	3 (17.6)
Moderado	4 (23.5)
Tratamiento esteroide previo	9 (52.9)
Dosis acumulada de Prednisona, mg	375 (162.5-512.5)
Características bioquímicas	
Glucosa (mg/dl)	149 (111-249.5)
HbA1c (%)	12 (8-12.5)
Creatinina mg/dl	0.77 (0.62-1.18)
Leucocitos x 10 ³ /μL	10 (8.8-14.3)
Neutrófilos x 10 ³ /μL	7.3 (5.7-10.11)
Linfocitos x 10 ³ /μL	1.9 (1.02-2.5)
Eosinófilos x 10 ³ /μL	0.07(0.03-0.16)
Plaquetas x 10 ³ /μL	376 (297-459.5)
Hb g/dL	12.2 (10.9-14)
INL x 10 ³ /μL	4.8 (2.2-8.8)
Colesterol mg/dl	161 (128-183)
HDL mg/dl	31 (28-45)
LDL mg/dl	104 (69-122)

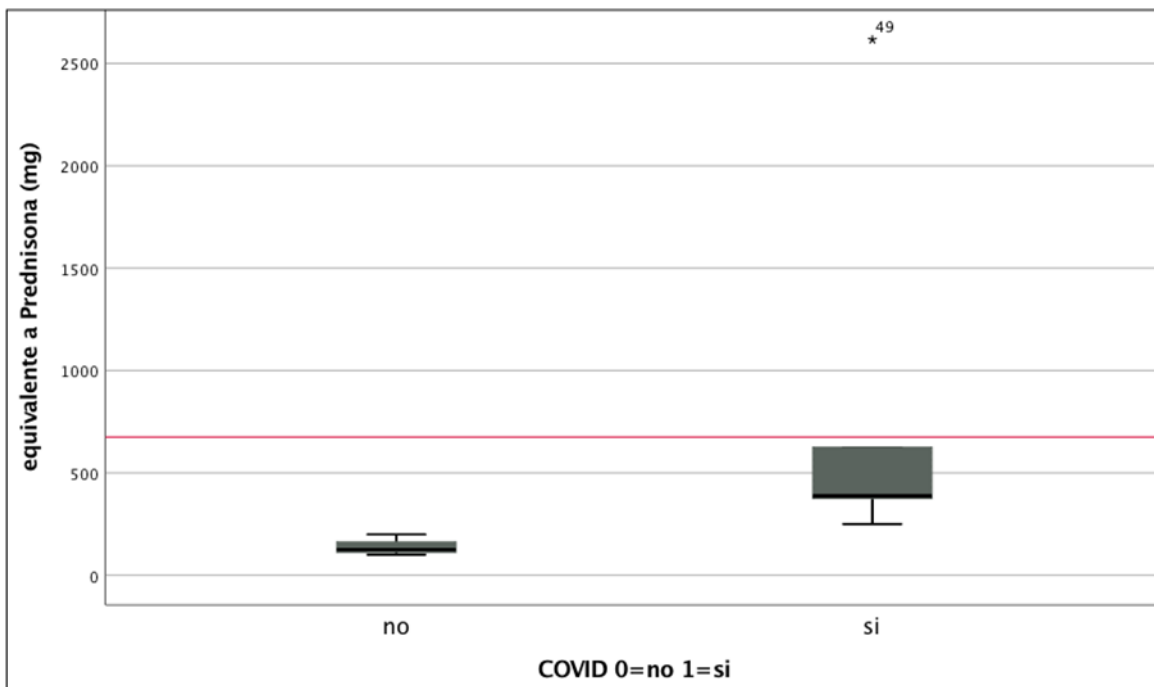
Proteína C Reactiva mg/dl	9.13 (4.7-14)
VSG mm/seg	23.5 (14-39)
Ferritina mg/dl	395 (201-567)
IgA mg/dL	259 (196-400)
IgM mg/dL	74 (58.7-84)
IgG mg/dL	964 (778-1171)
IgE mg/dL	144 (46.3-217)
Complicaciones	(%)
Estancia en UCI, días	1 (5.9)
VMI	2 (11.8)
Complicación EVC	5 (29.4)
Complicación LRA	14 (82.3)
LRA 1	5(29.4)
LRA 2	4(23.5)
LRA 3	5 (29.4)
Muerte	1 (5.9)

DM2: diabetes mellitus tipo 2. HAS: hipertensión arterial sistémica. COVID: enfermedad por coronavirus (del inglés coronavirus disease). HbA1c: hemoglobina glucosilada. INL: índice neutrófilo/linfocito. Hb: hemoglobina. HDL: high-density lipoprotein. LDL: low-density lipoprotein. VSG: velocidad de sedimentación globular. IgA: inmunoglobulina A. IgM: inmunoglobulina M. IgG: inmunoglobulina G. IgE: inmunoglobulina E. UCI, unidad de cuidados intensivos. VMI: ventilación mecánica invasiva. EVC: evento vascular cerebral, LRA: lesión renal aguda.

Tabla 2. INMUNOFENOTIPO				
Valores de Ref. edad 50-59 años	Total=17	Antecedente COVID-19 n=7 (41.1)	SIN COVID-19 n= 10 (58.8)	p
Leucocitos (4.5-11) x 10 ³ /μL	7.7(6.1-12)	6.9(6-11.7)	9.2 (6.5-12.8)	0.299
Neutrófilos (1.8-7.7) x 10 ³ /μL	6.4(3.3-8.2)	3.6(2.4-8)	6.7 (4.6-9.4)	0.142
Monocitos (<1.0) x 10 ³ /μL	0.270 (0.16-0.4)	0.15 (0.10-0.27)	0.32(0.27-0.51)	0.003
Linfocitos (1.8-2.9) x 10 ³ /μL	1.5 (0.89-2.09)	1.9(0.6-2)	1.5 (0.92-1.9)	0.837
NK (0.15-0.43) x 10 ³ /μL	0.10 (0.05-0.15)	0.09(0.03-0.16)	0.12(0.06-0.15)	0.536
Ln CD3 (0.7-2.1) (1.4-2.3)	1.14 (0.67-1.5)	1.52(0.5-1.5))	1.0 (0.67-1.3)	0.681
Ln CD4 (0.3-1.4)	0.72 (0.43-0.9)	0.7(0.3-0.8)	0.69(0.48-1)	0.536
Ln CD8 (0.2-0.9)	0.26 (0.13-0.5)	0.4(0.1-0.7)	0.25(0.14-0.38)	0.606
LcT CD4+CD45RA+ % Naive (31-57)	19(12-35)	19(9-36)	21(16-36)	NS
LcT CD4+CD45RA+ mm3 Naive (0.1-1.0)	0.16(0.07-0.2)	0.1(0.07-0.2)	0.22(0.11-0.28)	NS
LcT CD4+CD45RO+% (12-44) EM	40(31-57)	41(31-60)	41(29-53)	NS
LcT CD4+CD45RO+mm3 EM (0.2-0.2)	0.29(0.2-0.4)	0.34(0.15-0.4)	0.29 (0.2-0.4)	NS
LINFCD3+CD8+%	25 (19.45)	29(23-46)	20(14-31)	NS
LINFCD3+CD8+mm3	0.28(0.131-0.615)	0.44(0.1-0.7)	0.2(0.1-0.4)	NS
LcT CD8+CD45RA+% Naive	31 (15-53)	51(14-53)	22(15-46)	NS
LcT CD8+CD45RA+mm3 (0-0.3) Naive	0.11(0.02-0.19)	0.1(0.04-0.3)	0.2(0.1-0.2)	NS
LcT CD8+CD45RO+ % EM	15(8-25)	11(7-35)	41(29-53)	NS

LcT CD8+CD45RO+mm3 (0.02-0.3) EM	0.04 (0.018-0.07)	0.03 (0.01-0.08)	0.2(0.2-0.4)	NS
CD4/CD8 (0.8-3.9)	2.6(1.4-3.9)	2.8(1.7-5)	2.81.7-4.9)	NS
Linfocitos B Totales%	19(13-25)	20(11-23)	19(14-26)	0.918
Linfocitos B Totales mm3 Ref 1. (0.08-0.6) / Ref 2. (0.090-0.413)	0.26 (0.17-0.48)	0.2(0.1-0.54)	0.25(0.1-0.38)	NS
CD45RA+ %	100	100	100	NS
CD45RA+ mm3	0.26(0.19-0.43)	0.3(0.1-0.4)	0.26(0.1-0.3)	NS

Gráfico 1. Comparación de dosis recibida de esteroide entre pacientes con y sin COVID-19.



La línea de referencia muestra la dosis de prednisona elevada > 675 mg.

Gráfico 2. Células NK en pacientes con Mucormicosis

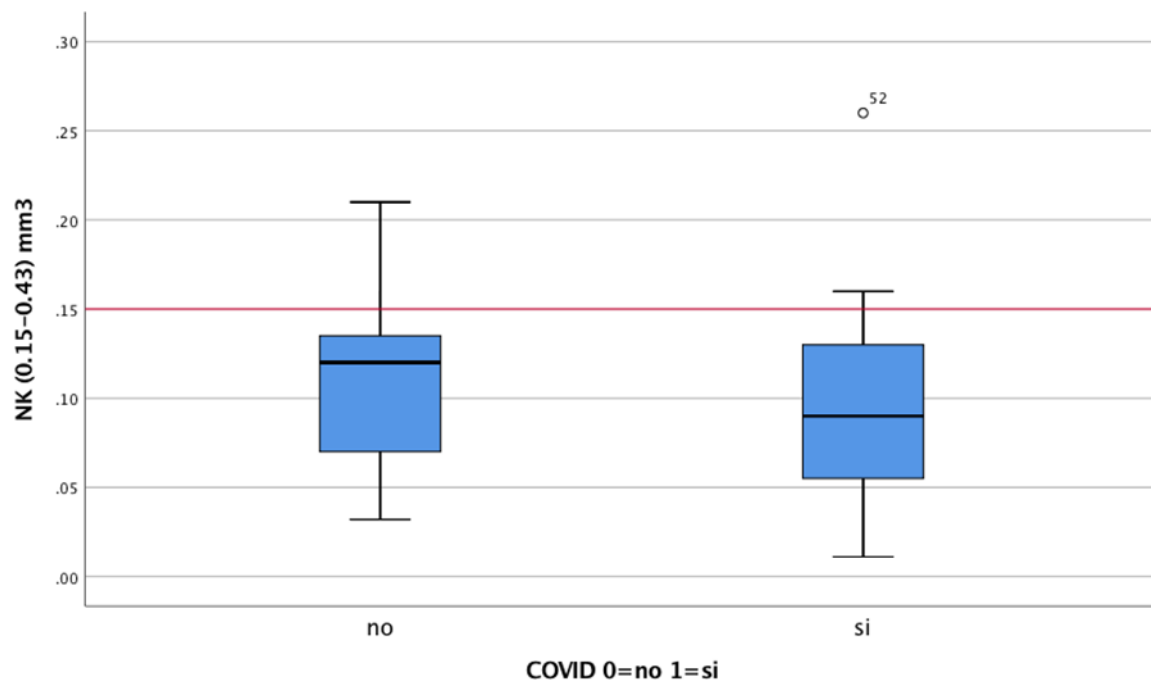
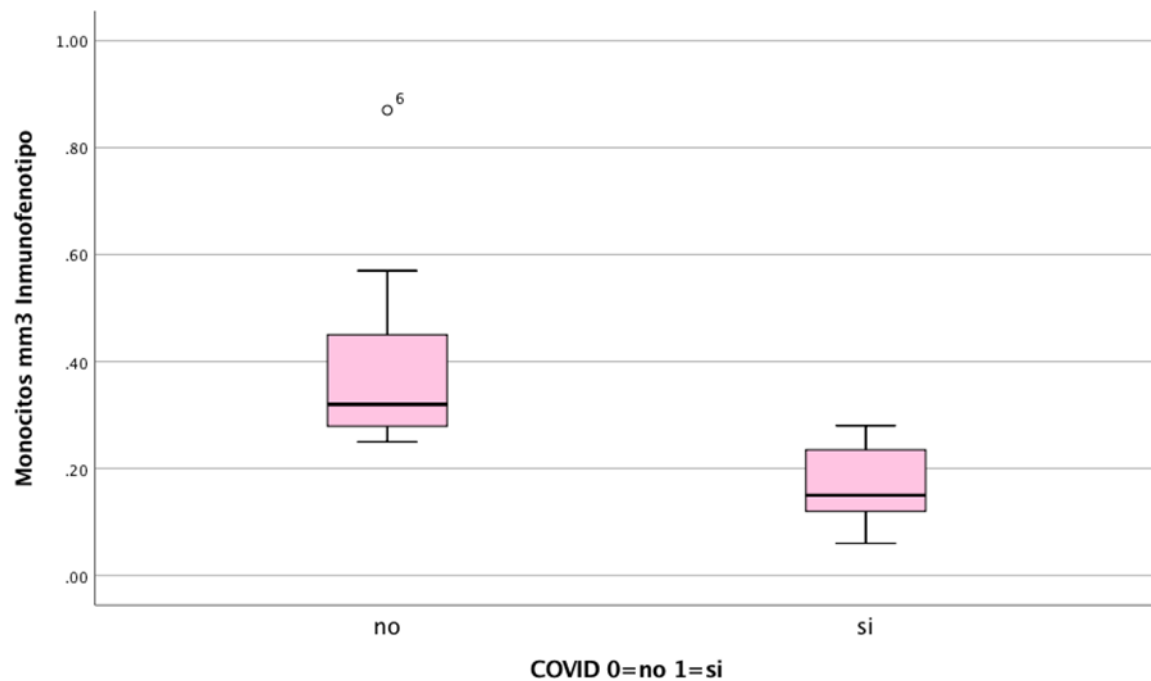


Gráfico 3. Comparación de cuenta de monocitos en pacientes con Mucormicosis.



BIBLIOGRAFÍA

1. Bell S, Mahoney L. Mucormycosis: a case study. *Crit Care Nurse*. 2000;20(1):18-23.
2. Kumar N, Hanks ME, Chandrasekaran P, Davis BC, Hsu AP, Van Wagoner NJ, et al. Gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) mutation-related primary immunodeficiency is associated with disseminated mucormycosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(1):236-9.
3. Ibrahim AS, Spellberg B, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. Pathogenesis of mucormycosis. *Clin Infect Dis*. 2012;54 Suppl 1(Suppl 1):S16-22.
4. Gandhi RT, Lynch JB, del Rio C. Mild or Moderate Covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(18):1757-66.
5. Garg D, Muthu V, Sehgal IS, Ramachandran R, Kaur H, Bhalla A, et al. Coronavirus Disease (Covid-19) Associated Mucormycosis (CAM): Case Report and Systematic Review of Literature. *Mycopathologia*. 2021;186(2):289-98.
6. John TM, Jacob CN, Kontoyiannis DP. When Uncontrolled Diabetes Mellitus and Severe COVID-19 Converge: The Perfect Storm for Mucormycosis. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(4).
7. Reid G, Lynch JP, 3rd, Fishbein MC, Clark NM. Mucormycosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2020;41(1):99-114.
8. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*. 2018;14(2):88-98.
9. Prakash H, Chakrabarti A. Global Epidemiology of Mucormycosis. *Journal of Fungi*. 2019;5(1):26.
10. Corzo-León DE, Chora-Hernández LD, Rodríguez-Zulueta AP, Walsh TJ. Diabetes mellitus as the major risk factor for mucormycosis in Mexico: Epidemiology, diagnosis, and outcomes of reported cases. *Med Mycol*. 2018;56(1):29-43.
11. Bonifaz A, Tirado-Sánchez A, Hernández-Medel ML, Araiza J, Kassack JJ, Del Angel-Arenas T, et al. Mucormycosis at a tertiary-care center in Mexico. A 35-year retrospective study of 214 cases. *Mycoses*. 2021;64(4):372-80.

12. Kontoyiannis DP, Lewis RE. Invasive zygomycosis: update on pathogenesis, clinical manifestations, and management. *Infect Dis Clin North Am.* 2006;20(3):581-607, vi.
13. Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, Chen SCA, Dannaoui E, Hochhegger B, et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis.* 2019;19(12):e405-e21.
14. Ghuman H, Voelz K. Innate and Adaptive Immunity to Mucorales. *Journal of Fungi.* 2017;3(3):48.
15. Inglesfield S, Jasiulewicz A, Hopwood M, Tyrrell J, Youlden G, Mazon-Moya M, et al. Robust Phagocyte Recruitment Controls the Opportunistic Fungal Pathogen *Mucor circinelloides* in Innate Granulomas In Vivo. *mBio.* 2018;9(2).
16. Nicolás FE, Murcia L, Navarro E, Navarro-Mendoza MI, Pérez-Arques C, Garre V. Mucorales Species and Macrophages. *J Fungi (Basel).* 2020;6(2).
17. Hassan MIA, Voigt K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. *Med Mycol.* 2019;57(Supplement_2):S245-s56.
18. Chamilos G, Lewis RE, Lamaris G, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. Zygomycetes hyphae trigger an early, robust proinflammatory response in human polymorphonuclear neutrophils through toll-like receptor 2 induction but display relative resistance to oxidative damage. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(2):722-4.
21. ENSANUT 2018.
20. Schmidt S, Tramsen L, Perkhofer S, Lass-Flörl C, Röger F, Schubert R, et al. Characterization of the cellular immune responses to *Rhizopus oryzae* with potential impact on immunotherapeutic strategies in hematopoietic stem cell transplantation. *J Infect Dis.* 2012;206(1):135-9.
19. Abraham RS, Aubert G. Flow Cytometry, a Versatile Tool for Diagnosis and Monitoring of Primary Immunodeficiencies. *Clin Vaccine Immunol.* 2016;23(4):254-71.
- 20.- Montañó DE, Voigt K. Host Immune Defense upon Fungal Infections with Mucorales: Pathogen-Immune Cell Interactions as Drivers of Inflammatory Responses. *J Fungi (Basel).* 2020 Sep 17;6(3):173.

- 21.- Schmidt Stanislaw, Tramsen Lars, Lehrnbecher Thomas. Natural Killer Cells in Antifungal Immunity. *Frontiers in Immunology*. Volume 8. 2017.
- 22.- Schmidt S, Schneider A, Demir A, Lass-Flörl C, Lehrnbecher T. Natural killer cell-mediated damage of clinical isolates of mucormycetes. *Mycoses*. 2016 Jan;59(1):34-8.
- 23.- Reid G, Lynch JP, 3rd, Fishbein MC, Clark NM. Mucormycosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2020;41(1):99-114.
- 24.- Hoenigl M, Seidel D, Carvalho A, Rudramurthy SM, Arastehfar A, Gangneux JP, Nasir N, Bonifaz A, Araiza J, Klimko N, Serris A, Lagrou K, Meis JF, Cornely OA, Perfect JR, White PL, Chakrabarti A; ECMM and ISHAM collaborators. The emergence of COVID-19 associated mucormycosis: a review of cases from 18 countries. *Lancet Microbe*. 2022 Jul;3(7): e543-e552.

ANEXO 1. Carta de consentimiento informado



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

Carta de consentimiento informado para participación en protocolos de investigación (adultos)

Nombre del estudio:	DETERMINACIÓN DE ALTERACIONES EN LA INMUNIDAD CELULAR POR INMUNOFENOTIPO EN PACIENTES CON MUCORMICOSIS ATENDIDOS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL.
Tipo de riesgo del estudio:	Riesgo mínimo
Patrocinador externo (si aplica):	No TIENE.
Lugar y fecha:	Servicio de Medicina Interna, Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI.
Número de registro institucional:	*****
Justificación y objetivo del estudio:	Se le está invitando a participar en este estudio debido a que tiene una infección por hongo llamada "Mucormicosis", esta infección es poco frecuente, que se disemina rápidamente y que amerita tratamiento con cirugía y con medicamento. Se ha visto que algunos pacientes tienen mayor riesgo de presentarla principalmente aquellos que tienen diabetes descontrolada y otras enfermedades como cáncer o estar en tratamiento que altera la función de las defensas. Este estudio tiene como objetivo determinar en una muestra de sangre cómo se encuentran algunas células que actúan en la defensa de infecciones, para poder conocer más esta enfermedad.
Procedimientos:	Si usted decide participar, su participación consistirá en permitir que se le tome una muestra sanguínea que será un tubo de 5 ml de sangre, mediante una punción con aguja. Así como autorizar que se tomen datos de su historial clínico y evolución de su enfermedad del expediente clínico.
Posibles riesgos y molestias:	Las posibles molestias o riesgos de participar en este estudio son las relacionadas a la toma de muestra sanguínea las cuales pueden ser dolor en el sitio de punción, sangrado, moretones e infección en el sitio de punción. La forma de reducir este riesgo será que la muestra sea tomada previo aseo de la zona de punción y tomada por médico con experiencia en toma de muestras sanguíneas. De presentar alguna molestia se dará atención médica en el hospital.
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Los resultados de este estudio no le darán beneficio para su enfermedad. Esto permitirá a los investigadores conocer más acerca de esta enfermedad. Si en los resultados se identificará alguna alteración en las defensas que amerite tratamiento especializado se le notificará a su médico tratante para ser referido al servicio de Alergia e Inmunología. El tratamiento no cambiará si participa o no en este estudio. Recibirá la atención adecuada y necesaria por su médico tratante. En ningún momento este manejo cambiará si usted decide no participar en este protocolo.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	Si usted desea conocer los resultados del estudio, esto será posible por medio del investigador responsable, de quien podrá encontrar sus datos al final de este documento.
Participación o retiro:	Si usted ha decidido participar y posteriormente decide retirar su consentimiento informado, esto NO cambiará en ningún momento su atención médica y los resultados recabados serán excluidos del reporte de resultados en el protocolo.
Privacidad y confidencialidad:	Los autores del presente protocolo declaran de manera unánime que todos los datos serán de uso exclusivo para este protocolo y serán manejados de forma confidencial, en ningún momento será revelada su identidad y no se divulgarán datos personales ni sensibles que logre identificarlo, los resultados serán difundidos en foros de investigación y revista de investigación médica. El manejo de su información será identificado con un número de folio asignado. No se utilizarán los datos recabados para ningún otro fin.

Declaración de consentimiento:

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

<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>

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 estudios y estudios futuros, conservando su sangre hasta por ____ años tras lo cual se destruirá la misma.

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

Investigadora o Investigador Responsable:

Dra. Maura Estela Noyola García.
M.C y adscrita y profesora del curso de Medicina Interna en el Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Siglo XXI, del IMSS.
Matricula: 99386474
Teléfono: 55 56276900 Ext. 21909
Correo: mnoyola.g@gmail.com

Colaboradores:

Dra. Alejandra Albarrán Sánchez,
M.C adscrita y profesora del curso de Medicina Interna en el Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Siglo XXI, del IMSS.
Teléfono: 55 56276900 Ext. 21909
Correo: albarranalejandra@gmail.com

Dr. Luis Manuel Borges López
Residente del tercer año de Medicina Interna en el Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social.
Matricula: 97383905
Teléfono: 55 56276900 Ext. 21909
Correo: borges7@live.com.mx

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 firmá del participante

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma