



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPÚLVEDA G.

**“PARTICIPACION DEL TREM-1 (TRIGGERING RECEPTOR
EXPRESSED ON MYELOID CELLS-1) COMO SEÑAL TEMPRANA
DE INFECCIÓN, EN LA EVOLUCIÓN DE PACIENTES
QUIRÚRGICOS, CON RESPUESTA INFLAMATORIA
SECUNDARIA” (RESULTADOS EN PACIENTES SÉPTICOS; SU
VALOR PREDICTIVO Y DE LAS MOLÉCULAS DE CLASE II DEL
COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD - MHCII)**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA
ESPECIALIDAD EN CIRUGÍA GENERAL**

PRESENTA:

DR. ERICK ROLANDO ROCHA GUEVARA

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. EDUARDO FERAT OSORIO





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.

DRA. LEONOR BARILE FABRIS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. BERNARDO SEPÚLVEDA”
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DR. EDUARDO FERAT OSORIO
MEDICO ADSCRITO DEL SERVICIO DE GASTROCIRUGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. BERNARDO SEPÚLVEDA”
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DR. ROBERTO BLANCO BENAVIDES
JEFE DEL SERVICIO DE GASTROCIRUGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “DR. BERNARDO SEPÚLVEDA”
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco profundamente el constante afecto y apoyo brindado por mi familia.

Así mismo quiero agradecer a mis maestros, compañeros residentes y a los pacientes por todo el conocimiento otorgado durante mi formación.

COLABORADORES:

Noemí Esquivel Callejas. Médico Cirujano. Estudiante de Maestría en Ciencias Genómicas. Universidad Autónoma de México.

Isabel Wong Baeza. Maestra en Ciencias Biológicas.

Rosalía Aduna Vicente. Biología Experimental.

Lourdes Arriaga Pizano. Doctora en Ciencias Biológicas

Néstor González Roldán. Maestro en Ciencias.

Armando Isibasi Araujo. Jefe De La Unidad De Investigación Médica En Inmunología

†Rubén Torres González. Maestro en Ciencias Médicas.

Constantino López Macías. Doctor en Ciencias Biomédicas. Invest. Asociado B.

£Patricio Sánhez Fernández. Médico Cirujano gastroenterólogo

Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica (UIMIQ)

£Servicio de Gastrocirugía.

Hospital de Especialidades, Centro Médico nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

†Hospital de Ortopedia y Traumatología, Magdalena de las salinas, IMSS.

ÍNDICE:	PAG.
RESUMEN/INTRODUCCION.....	5
ANTECEDENTES.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	18
Generales.....	18
Particulares.....	18
METODOLOGÍA.....	19
Diseño de Estudio.....	19
Reactivos y Equipo.....	19
Universo de Trabajo.....	19
Descripción de las variables según metodología.....	20
Definición operacional del variables.....	20
Selección de muestra.....	21
Tamaño de muestra.....	21
Procedimiento.....	22
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	25
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	26
RECURSOS PARA EL ESTUDIO.....	27
Recursos humanos.....	27
Recursos materiales.....	27
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	27
RESULTADOS.....	29
DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES.....	43
PERSPECTIVAS.....	44
REFERENCIAS.....	45
ANEXOS.....	54

Palabras Clave: TREM-1, SIRS, Moléculas Clase II

RESUMEN

“PARTICIPACION DEL TREM-1 (TRIGGERING RECEPTOR EXPRESSED ON MYELOID CELLS-1) COMO SEÑAL TEMPRANA DE INFECCIÓN, EN LA EVOLUCIÓN DE PACIENTES QUIRÚRGICOS, CON RESPUESTA INFLAMATORIA SECUNDARIA” (RESULTADOS EN PACIENTES SÉPTICOS; SU VALOR PREDICTIVO Y DE LAS MOLÉCULAS DE CLASE II DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD - MHCII)

Introducción.

El SIRS asociado a patógeno constituye la sepsis, una de las principales causas de muerte. Parte del SIRS corresponde a la respuesta inmune-innata, a través de mecanismos protectores que en ocasiones desarrollan complicaciones mortales. Eventualmente el diagnóstico es difícil, por los criterios de SIRS (inespecíficos, limitados y subjetivos, con poca especificidad y escaso significado pronóstico), o los cultivos negativos. Por ello el interés por moléculas-inflamatorias que detecten infecciones tempranamente. Un marcador propuesto es TREM-1, que incrementa su expresión en padecimientos infecciosos no quirúrgicos, pero no en proceso inflamatorios; y MHCII, cuya disminución predispone a la presencia de infecciones. La identificación oportuna de sepsis ofrece la oportunidad de un tratamiento oportuno.

Objetivo:

Estudiamos la expresión de TREM-1 y MHCII en monocitos de pacientes con sepsis inicial. METODOLOGÍA. Estudio observacional, longitudinal y prospectivo

en px-sépticos: Determinamos TREM-1 y MHCII por FACS, IL-6 e IL-10 séricas por ELISA. Dos grupos: sanos y sépticos.

Resultados:

Veinticinco pacientes (14% ♂), edad 56.5 ± 18.3^a (23-88a). Promedio MHCII de $42.6 \pm 28.7\%$ (1.1-83.63%) y TREM-1 de 50.1 ± 29.1 (20.2-147). La mortalidad fue de 17px, sepsis 16% y severa/choque-séptico 52%. Hicimos pruebas no paramétricas con el fin de identificar: diferencias en promedios de MHCII y TREM-1, en sobrevivientes y fallecidos; un punto de corte pronóstico; y aplicar medidas de asociación. Analizamos IL-6 e IL-10, con r de Pearson para identificar la tendencia que presentaron los sépticos, sépticos-vivos y sépticos muertos. La distribución de edades no fue homogénea, predominando > de 60 años en fallecidos. MHCII y TREM1 fueron mayores en sobrevivientes; y menores en fallecidos con cierto significado estadístico para MHCII (6 veces más riesgo de muerte el grupo con MHCII igual o menor de 55%). La correlación entre IL-6 e IL-10 fue cercana al 1, y mejora en el grupo sobreviviente.

Discusión:

Los px-sépticos por definición presentan SIRS, aunque identificamos predominio de patrón anti-inflamatorio sobre el pro-inflamatorio (disminución MHCII, incremento de IL-10 e IL-6). MHCII podría fungir como marcador pronóstico; y e valor de TEM-1 como marcador pronóstico mejoraría también, pero con mayor número de pacientes, sin embargo, no correlacionó con la presencia de infección en este grupo de pacientes con sepsis.

1. ANTECEDENTES

La inflamación se genera como consecuencia de una agresión y la magnitud de la primera, depende del tipo y duración de la segunda. La mayoría de las veces es autolimitada y circunscrita al sitio afectado, lo que facilita el restablecimiento de la homeostasis; en otras; la respuesta inflamatoria se generaliza, constituyendo, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS por sus siglas en inglés).²

Una de las causas de SIRS está en relación de la invasión por microorganismos patógenos, aunque también existen situaciones que se relacionan con el desarrollo de este síndrome como: traumatismos, enfermedades inflamatorias agudas, intervenciones quirúrgicas mayores, etc. La presencia del SIRS asociado a un patógeno, constituyen la sepsis. Esta entidad es la principal causa de muerte en pacientes graves, y en los últimos años ha habido un incremento en su incidencia, a pesar del desarrollo tecnológico en el área de la medicina clínica y la investigación básica.³⁻⁶

La inflamación generada por un proceso infeccioso se caracteriza por vasodilatación, incremento en la permeabilidad, infiltración celular y, en algunos casos, activación de la cascada de coagulación. La vasodilatación facilita la llegada de células y mediadores inflamatorios y se produce por la acción del óxido nítrico (producido en leucocitos activados a partir de la enzima óxido nítrico sintetasa inducible) y las prostaglandinas, generadas a partir del ácido araquidónico. El edema se produce como resultado de la fuga de líquido intravascular rico en proteínas, al espacio extracelular por acción de

sustancias como la histamina, bradicinina, leucotrienos, complemento, sustancia P y el factor activador plaquetario , entre otros. Estas alteraciones incrementan la presión hidrostática intravascular y la presión coloidosmótica intersticial que , en un inicio, facilita la llegada de anticuerpos y proteínas de fase aguda al sitio donde la inflamación se genera⁷. La infiltración celular la inician los neutrófilos a través de una serie de pasos que implican marginación, rodamiento, adhesión y diapédesis celular, hacia el sitio de inflamación. Este fenómeno es facilitado por la interacción de glicoproteínas presentes en la superficie de las células endoteliales (selectinas e integrinas), que se unen a sus ligandos correspondientes en las células inflamatorias y a la quimiotaxis generada por quimiocinas, producidas por los propios neutrófilos⁸. Finalmente , la cascada de la coagulación también se activa, especialmente durante los procesos infecciosos, por lo que ambos procesos, la inflamación y la coagulación, van de la mano. De las dos vías de la coagulación, la vía extrínseca (a partir del factor tisular), es la que principalmente se activa en el caso de SRIS sepsis⁹.

Parte de esta respuesta anteriormente descrita, corresponde a la respuesta inmune innata a la infección y los componentes esenciales de esta son los neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, célulasNK (Natural Killer) y los mediadores inflamatorios que estas producen, que regulan y amplifican la respuesta inflamatoria (citocinas, quimiocinas, etc). Estos mecanismos, en principio protectores, en ocasiones pueden llevar al desarrollo de complicaciones que comprometen la vida. Estas células inflamatorias tienen

funciones específicas, pero de estas, los macrófagos y las células dendríticas, se distinguen por su capacidad para producir estos mediadores, tras el reconocimiento de micro-organismos a través de receptores de superficie que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Unos de estos receptores se les conoce como Receptores tipo Toll (Toll Like Receptor-TLRs) y pertenecen al grupo de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), dentro de los que se encuentran también otros receptores de la superficie celular (ej. receptor de manosas), receptores intracelulares (ej. NOD)¹⁰, receptores solubles (ej. LBP)¹¹.

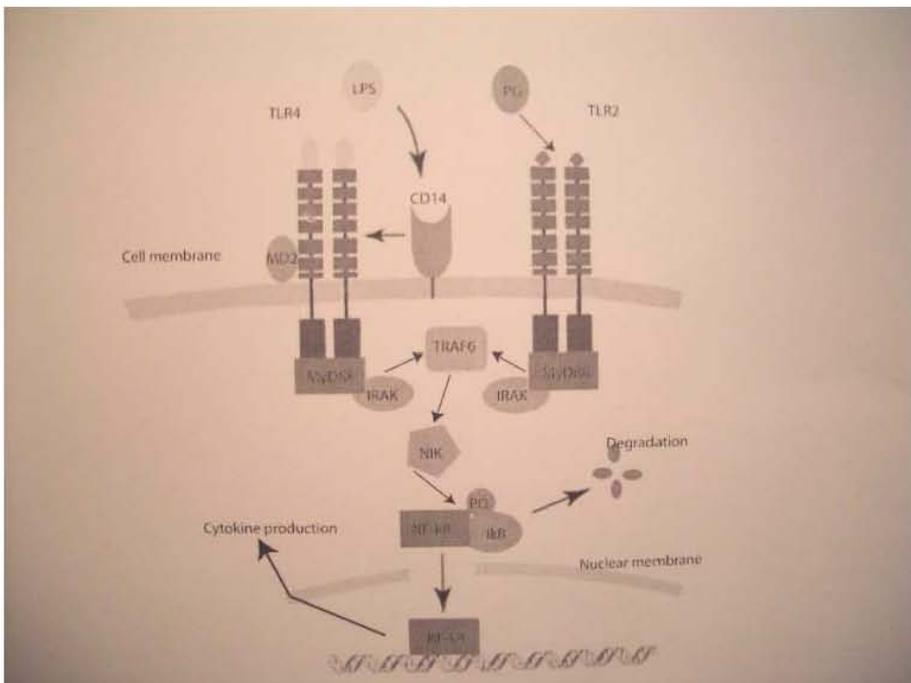
Hasta el momento se han descrito once TLRs en humanos, agrupados de acuerdo al tipo de ligandos que ellos reconocen y se encuentran distribuidos en diferentes tipos de células. Las estructuras basadas en lípidos reconocidas por TLR2 en combinación con TLR1 o TLR6, formando heterodímeros; TLR4, formando homodímeros, reconoce al lipopolisacárido bacteriano (LPS); ácidos nucleicos bacterianos y/o virales, son reconocidos por TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9; TLR5 y TLR11 reconocen flagelina y profilina respectivamente¹².

Los receptores TLRs forman complejos con otras moléculas tras la unión de su ligando, y posteriormente desencadenan la activación de la señalización intracelular que lleva a la traslocación de factores de transcripción que inducen la transcripción genética de los mediadores inflamatorios. De estos últimos, quizá uno de los primeros que producen los macrófagos es el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-). Se libera en cuestión de minutos y es responsable de modular la actividad de células inflamatorias (neutrófilos y

mononucleares), de otras citocinas (Interleucina 1(IL-1),Interleucina 8 (IL-8), Interleucina 12 (IL-12), Interferón gamma (INF-) y diferentes mecanismos de defensa antimicrobianos .

Estas citocinas, descritas principalmente como pro-inflamatorias, se encuentran reguladas por otro tipo de mediadores, con funciones anti-inflamatorias, como la IL-10 y el factor de transformación beta (TGF-), el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), el receptor soluble de TNF-, el receptor antagonista de la ingerleucina1 (IL-1ra) y algunas prostaglandinas. Por su parte, IL-10 especialmente , se encarga de inhibir la producción de citocinas pro-inflamatorias , especialmente de IL-12 con la consecuente disminución de INF-y. ^{1,13-15}

Esquema 2. ¹



Para lograr la homeostasis, el SRIS generalmente se compensa por una respuesta anti-inflamatoria que se le conoce como Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria compensadora (CARS), a través de estos mediadores inflamatorios¹⁶. Con el paso del tiempo se empiezan a conocer otros participantes fundamentales de la respuesta inflamatoria. Es el caso del papel que el sistema nervioso central tiene en la regulación de la respuesta inflamatoria a través de múltiples mecanismos. La comunicación entre el sistema nervioso central y el sitio de infección ocurre a tres niveles: El primero implica que componentes microbianos o mediadores inflamatorios estimulan fibras sensoriales a nivel del sitio de afección que inducen una respuesta del sistema nervioso. Segundo: cantidades pequeñas de citocinas, prostaglandinas (E2) o agonistas microbianos, difunden desde los tejidos afectados hasta la circulación, alcanzando el hígado en donde, a través del nervio vago se activa el eje hipotálamo-pituitario-adrenal. Tercero, grandes cantidades de mediadores ejercen sus efectos en el tallo cerebral y en el hipotálamo. El sistema nervioso incrementa la producción de la hormona adrenocorticotrópica, la hormona estimulante de los alfa-melanocitos, epinefrina, cortisol, polipéptido intestinal vasoactivo y otros, que tienen un potente efecto anti-inflamatorio¹⁷. Recientemente Tracey y colaboradores reportaron que la acetilcolina, un neurotransmisor fundamental tanto del sistema nervioso autónomo, inhibe la producción de HGB1(High Mobility Group Box-1), que se considera como un mediador pro-inflamatorio tardío¹⁸.

El SRIS se caracteriza por fiebre o hipotermia, leucocitosis o leucopenia y un estado hiperdinámico. Estas manifestaciones se encuentran en los procesos

sépticos , como consecuencia de una respuesta sistémica a la infección, pero existen otras condiciones capaces de generar un SRIS sin la presencia de un proceso infeccioso, de tal forma que , en ocasiones, no es sencillo diferenciar las causas de SIRS. El CARS por su parte, no tiene manifestaciones clínicas conocidas hasta el momento , pero se puede caracterizar desde el punto de vista molecular a través del análisis de la expresión las moléculas clase II del complejo principal de Histocompatibilidad por debajo de 30% (por citometría de flujo) y el incremento en la producción de IL-10. Es posible que la disminución de la expresión en el número de moléculas de clase II, predisponga al desarrollo de infecciones por micro-organismos patógenos o comensales que rompen la barrera de defensa del organismo, por la alteración en la presentación de antígenos y la consecuente activación de linfocitos T. Esto tiene implicaciones importantes, por un lado, pasar por alto la presencia de un proceso infeccioso puede llevar al desarrollo de falla orgánica múltiple y muerte, por otro, el propio CARS predispone a la adquisición de infecciones intra-hospitalarias , entre ellas las neumonías nosocomiales¹⁹.

En ocasiones, el diagnóstico de un proceso infeccioso en pacientes hospitalizados con SIRS no es fácil. En primer lugar porque los criterios originales para definir el SIRS son inespecíficos, limitados en número y subjetivos , por lo que tienen poca especificidad y carecen de significancia pronóstica²⁰. Además de que se requieren de cultivos, que en muchas ocasiones no desarrollan los micro-organismos responsables a pesar de la presencia de estos²¹. Rangel Frausto y colaboradores reportaron que los pacientes sépticos con cultivos negativos y aquellos con

cultivos positivos, tienen índices similares de mortalidad y morbilidad²². La asociación de una falla orgánica al paciente con sospecha de sepsis se le conoce como sepsis grave y cuando las alteraciones hemodinámicas se caracterizan por hipotensión, se clasifica como choque séptico. La mortalidad de la sepsis grave y del choque séptico son mayores todavía y existen la duda de que estas entidades representen un continuo. Sin embargo, es posible que en algunos pacientes en los que sospechamos sepsis o sepsis severa (por la presencia de falla orgánica múltiple), en los que no existe desarrollo de micro-organismos en los cultivos, estemos enfrentando el desarrollo de una respuesta inflamatoria sistémica con falla orgánica sin la presencia de infección. Existen reportes de moléculas endógenas que pueden desencadenar una respuesta inflamatoria sistémica o magnificarla, actuando como ligandos de TLRs y otros receptores de la superficie celular²³. De estos, quizá HMGB1 sea uno de los más estudiados junto con las proteínas e choque térmico. También se ha visto que la presencia de CARS puede estar presente en forma simultánea con el SIRS , desde el principio del padecimiento el paciente (Isibasi y colaboradores. Manuscrito en preparación). Todo lo anterior ha motivado el interés por caracterizar el comportamiento de diferentes moléculas involucradas en SIRS y el CARS, y en las diferentes formas de la sepsis, para encontrar marcadores moleculares que detecten la presencia de infecciones y/o predigan el curso de la enfermedad, de manera temprana y poder tomar una conducta terapéutica oportuna y en consecuencia²⁴.

Uno de estos marcadores propuestos propuesto como marcado temprano de infección es TREM-1 (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells -1)

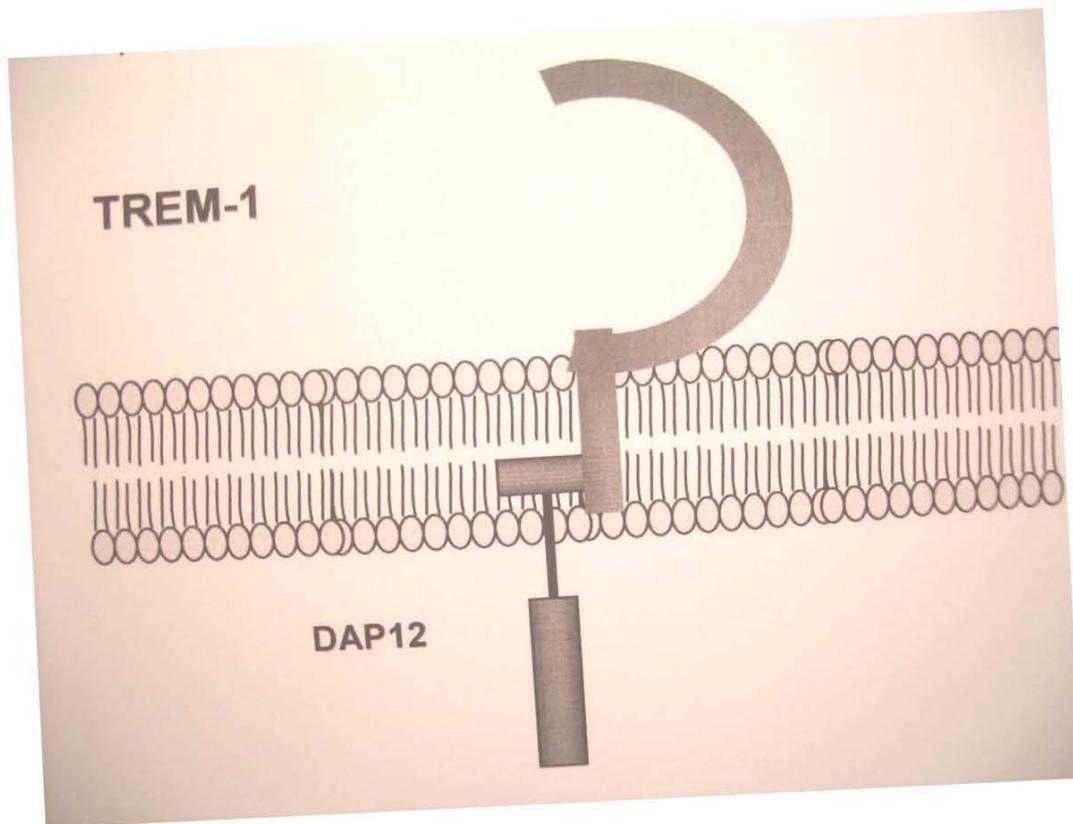
(Esquema 1).TREM-1 es un receptor que se expresa en células mieloides, principalmente en monocitos y neutrófilos , pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas y señala río abajo formando complejo con la molécula adaptadora DAP -12²⁵. Aunque el ligando no se conoce hasta el momento, TREM1 contribuye a la amplificación del fenómeno inflamatorio²⁶. Bleharski y colaboradores reportan que la unión de un anticuerpo agonista de TREM-1 incrementa la producción de quimiocinas y sinergiza con LPS (ligando de TLR4), para la producción de citocinas pro-inflamatorias e inhibición de la producción IL-10. Estas mismas citocinas pro-inflamatorias (TNF y GM-CSF), incrementan la expresión de TREM-1, mientras IL-10 disminuye su expresión²⁷. La asociación TREM-1 con la sepsis parte de un reporte de Bouchon y colaboradores en el que encuentran que la expresión de TREM-1 se incrementa en neutrófilos y monocitos en presencia de padecimientos inflamatorios infecciosos (bacterias extracelulares y hongos), pero no en procesos inflamatorios no infecciosos. En este mismo reporte se menciona del incremento en la expresión de TREM-1 en los neutrófilos peritoneales de pacientes con choque séptico , contrario a lo observado en células obtenidas de lavado peritoneal de pacientes con SRIS, sin sepsis²⁶.

Con este trabajo, el autor propone a TREM-1 como una molécula que amplifica la respuesta inflamatoria desencadenada por micro-organismos , a través del incremento en la expresión de TREM-1 generado por estos. De esta manera, TREM-1 señala para la producción de citocinas pro-inflamatorias. Sin embargo, bloqueando la participación de TREM-1 (con un anticuerpo anti-TREM), se puede prevenir la producción de choque séptico en modelos murinos, a través de la

inhibición de la producción de mediadores pro-inflamatorios . Esto llevó también a especular que podría ser blanco terapéutico en los casos de sepsis.

Posteriormente , Gibot y colaboradores, encuentran incremento de la forma soluble de TREM-1 (Strem-1) en pacientes con neumonía. El mismo autor, publica un estudio prospectivo en el que analizan TREM-1 de membrana y encuentran incremento en su expresión en pacientes con choque séptico²⁸. Recientemente, Isibasi y colaboradores, reportan que el incremento en la expresión de TREM-1 con la disminución en la expresión de moléculas de clase II del Complejo Principal de Histocompatibilidad, se asocian con mal pronóstico en pacientes con sepsis de pacientes quirúrgicos.

Esquema 1.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La respuesta inflamatoria sistémica a la infección se le conoce como sepsis y se manifiesta por alteraciones en el número de leucocitos, temperatura y estatus hemodinámico del paciente. No solo la presencia de infecciones puede generar la estas manifestaciones, que en conjunto reciben el nombre de Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS). Situaciones como el trauma (accidentes automovilísticos, quemaduras, etc), enfermedades de presentación aguda (pancreatitis aguda, colecistitis aguda, hemorragia de tracto digestivo alto, etc) y procedimientos quirúrgicos mayores, también pueden acompañarse del SRIS. La evolución de los pacientes quirúrgicos puede verse complicada por la presencia de un proceso infeccioso y la necesidad de identificar la causa que está generando el SRIS es muy importante, ya que de la causa que lo genere, depende el tratamiento. Dicho de otra forma, la identificación oportuna de un proceso infeccioso en pacientes operados, ofrece la oportunidad de un tratamiento más oportuno. De tal forma que, conocer el comportamiento de potenciales marcadores de procesos infecciosos es de suma importancia, y TREM-1 se propone como uno de ellos. Por lo que la realización de este trabajo en pacientes con un proceso infeccioso establecido y plenamente identificado, es uno de los primeros pasos para ampliar el conocimiento de este receptor.

3. HIPÓTESIS.

La expresión de TREM-1 de membrana en monocitos de sangre periférica de pacientes portadores de sepsis, se encontrará incrementada.

El incremento en la expresión de TREM-1 se asocia con incremento en la mortalidad del paciente con sepsis.

4. OBJETIVOS.

4.1 Generales

Caracterizar el comportamiento molecular de TREM-1 de membrana en pacientes con sepsis.

4.2 Particulares

- a. Analizar si la expresión de TREM-1 de membrana se encuentra incrementada en pacientes con sepsis.
- b. Analizar si el incremento de TREM-1 de membrana en pacientes con sepsis, se asocia con incremento en la mortalidad de estos.

5. METODOLOGÍA

5.1 Diseño del estudio:

Estudio de cohorte (observacional, longitudinal y prospectivo).

El estudio comprende una parte clínica y otra experimental. La parte clínica incluye la evaluación de los pacientes con sepsis y la experimental comprende la determinación de TREM-1, en el laboratorio de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica (UIMI), del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS (HE CMN). Para lograr los objetivos del trabajo se conformarán 2 grupos: Grupo A, compuesto por personas sanas, a los que se les realizarán la misma determinación que a los pacientes y servirá para establecer los valores basales y punto de comparación con el grupo de estudio. Grupo B, compuesto por pacientes sépticos. A estos pacientes se les realizarán cuatro tomas de sangre con intervalo de 48 horas entre cada una de ellas y se continuará con el seguimiento clínico hasta su egreso.

5.1.1. Reactivos y Equipo.

Reactivos y equipo de la UIM en Inmunoquímica del HE CMN.

5.2 Universo de trabajo

Quedará constituido por pacientes del Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social (HECMN), con diagnóstico de sepsis y que cumplan con los criterios de inclusión. Las personas que conformarán el grupo A, serán voluntarios que vayan a donar sangre al Banco de Sangre, con edades correspondientes a las del grupo problema (grupo B).

5.3 Descripción de las variables según la metodología

5.3.1 Variables independientes:

5.3.1.1. Sepsis.

5.3.1.2. Mortalidad.

5.3.2 Variables dependientes:

5.3.2.1. Expresión de TREM-1

5.3.3 Variables de control

5.3.3.1 Edad.

5.3.3.2 Sexo.

5.4 Definición operacional de variables:

5.4.1 Variables Independientes.

5.4.1.1. Sepsis.

Es la presencia de un proceso infeccioso, demostrado mediante cultivos o cuando se tiene evidencia objetiva a través de la exploración física en el paciente o a través de algún estudio de gabinete y que reúne criterios diagnósticos de SRIS. El SRIS se diagnostica cuando se tienen dos o más de los siguientes criterios:

a. temperatura $>38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$

b. frecuencia cardiaca >90 latidos/min

c. frecuencia respiratoria >20 /min o $\text{PaCO}_2 <28$ mmHg

d. cuenta de leucocitos $>12\ 000/\text{mm}^3$, $<4\ 000/\text{mm}^3$ ó $>10\%$ de bandas (2).

5.4.2 Variables Dependientes

5.4.2.1. TREM-1:

Receptor activador expresado en células Mieloides (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells). Proteína perteneciente a la Ig-SF. Se expresa en neutrófilos y monocitos CD14^{alto} y principalmente en células que infiltran tejidos infectados por bacterias (51). Difícilmente detectable en tejidos inflamados no infectados. No se conoce ligando y su activación induce la liberación de mediadores pro-inflamatorios, presentando efecto sinérgico en presencia de LPS.

5.4.3 Variables de control.

5.4.3.1 Edad: expresada en años en una escala cuantitativa discreta.

5.4.3.2 Sexo: expresado en una escala cualitativa nominal. Masculino, femenino.

5.5 Selección de la muestra

Se incluirán, en forma consecutiva, todos los pacientes que se encuentran con diagnóstico de sepsis, y que cumplan con los criterios de selección.

5.6 Tamaño de la muestra

Se incluirán todos los pacientes que sean captados durante el tiempo de duración del proyecto.

5.6.1 Criterios de selección

5.6.1.1 Criterios de inclusión:

- a. Pacientes de cualquier sexo con diagnóstico de sepsis, con alguna patología que involucre al aparato gastrointestinal y por tanto requiera de la valoración de los cirujanos del Servicio de Gastrocirugía del HE CMN.
- b. Pacientes que acepten participar en el estudio.
- c. Pacientes entre 18 y 80 años de edad.

d. Pacientes con sepsis de cualquier origen, de menos de 5 días de evolución,

5.6.1.2 Criterios de no-inclusión:

- a. Pacientes portadores de Virus de Inmunodeficiencia Humana con SIDA y hepatitis crónica por Virus de Hepatitis C.
- b. Pacientes que rehúsen participar en el estudio o continuar en el mismo.

5.6.1.3 Criterios de exclusión:

- a. Pacientes que deseen retirarse del estudio, o en su caso, familiares que deseen que su familiar sea excluido del estudio.
- b. Pacientes cuyas muestras sanguíneas no sean factibles de procesar por situaciones inherentes a la toma y/o procesamiento de la misma.

5.7 Procedimiento

5.7.1. Procedimiento.

Se incluirán a todos los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y que ingresen a cargo del servicio de Gastrocirugía del HE CMN SXXI. Estos pacientes serán captados durante la entrega de guardia. Se le explicará al paciente o a su familiar en que consiste su participación en este proyecto y, de estar de acuerdo, se le entregará una carta de consentimiento informado, la cual firmará de conformidad (Anexo Hoja de consentimiento informado).

El seguimiento de la evolución de los pacientes, se realizará por parte de los integrantes del protocolo. Será responsabilidad del médico tratante, perteneciente al Servicio de Cirugía Gastrointestinal, la identificación y resolución de los problemas que puedan surgir a lo largo de su estancia hospitalaria. El seguimiento clínico del paciente se hará hasta su egreso, independientemente del desenlace.

La toma de productos se realizará por los integrantes del proyecto, así mismo la realización del procedimiento en particular.

5.7.2. Procedimiento en particular.

A los pacientes se les extraerán 8 mL de sangre por las mañanas en 4 ocasiones, con intervalo de 48 horas entre cada una de ellas. Lo anterior dependerá del tiempo de permanencia del paciente. Así, los pacientes que ameriten permanecer por más tiempo, será necesariamente porque su condición clínica así lo requiere. Aquellos pacientes con estancia inferior a dos días, se les considerará únicamente el número de muestras que se alcancen a tomar durante su internamiento. Al grupo de personas sanas, se les realizará una sola toma de sangre.

Para la obtención de la muestra de pacientes que no cuenten con un catéter central, se tomará la muestra por punción bajo el siguiente protocolo: asepsia de la región con torundas alcoholadas, aplicación de un torniquete con tubo de látex en el tercio distal del brazo seleccionado. Se puncionará al paciente con aguja Vacutainer 0.8 x 38 y adaptador Vacutainer, en la vena mediana preferentemente. La muestra se obtiene en tubos especiales por presión negativa. Para aquellos que cuenten con catéter central, se iniciará con la asepsia del conector del catéter, extracción de 8 ml de sangre y posteriormente lavado de catéter con 10 ml de solución salina y en los casos en los que el catéter se encuentre cerrado, se heparinizará con 0.5 ml de heparina de 1000 unidades. En todos los casos cuidando los pasos críticos de asepsia.

5.7.2.1. Procedimiento para la determinación de TREM-1 por citometría de flujo.

- Se obtendrá una muestra de 1 mL de sangre periférica en un tubo heparinizado.
- En tubos FACS (rotulados del 1 al 5, con las iniciales del paciente y fecha del procesamiento) se procederá a colocar en el fondo del mismo, el anticuerpo correspondiente (de 3 a 5 μ l, dependiendo del anticuerpo), distribuidos de la siguiente manera:

Tubo 1: Sin anticuerpo.

Tubo 2: 4 μ l de anti CD14.

Tubo 3: 5 μ l de anti TREM-1.

Tubo : 4 μ l de anti CD14.+ 5 μ l de anti TREM-1.

- Se agregarán 100 μ L de sangre total.
- Se mezclará en vortex (suavemente).
- Se incubará durante 20 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
- Al termino de la incubación se agregarán 400 μ l de solución FACS IX (la solución se encuentra a una concentración de 10 X y se preparará con agua bidestilada .
- Se mezclará en vortex (suavemente).
- Se incubará durante 25 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente.
- Se lavará con solución fisiológica con 2 mL por tubo y se agitará suavemente.
- Se centrifugará a 2500 rpm por 5 minutos y a temperatura ambiente.

- Se decantará la solución de lavado.
- Se resuspenderá el botón celular agregando 200 µl de solución isotónica.
- Se taparan los tubos y guardaran en la oscuridad a 4 (C para su lectura.

Los pacientes con sepsis serán captados en una hoja de recolección de datos (Ver Anexo), en la que se asentarán los datos demográficos del paciente, antecedentes personales no patológicos, antecedentes patológicos, padecimiento actual, tipo de intervenciones realizadas y sus hallazgos, así como la evolución durante el tiempo de seguimiento. También quedarán consignados los medicamentos utilizados durante el procedimiento y después del mismo (analgésicos, antibióticos, aminas vasoactivas) y también la administración de productos hemáticos (plasma, paquetes globulares, crioprecipitados, etc.).

Los gravedad de los pacientes se realizará de acuerdo a la escala de APACHE II (Ver Anexo). Se determinará en cada momento que se tome la muestra correspondiente al protocolo y con los resultados de la evaluación más reciente realizada por los médicos de la UCI o bien del piso de Gastrocirugía.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables medidas en escala cuantitativa se expresaron en promedio y desviación estándar.

En las variables cuantitativas se utilizó una comparación de promedios para muestras independientes a través de la prueba t Student.

En todos los casos se consideró como estadísticamente significativo un valor de probabilidad menor a 0.05.

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

7.1 Buenas prácticas clínicas

Todo el trabajo clínico que se desarrolle en el protocolo, estará sujeto a los lineamientos de las buenas prácticas clínicas. El presente protocolo obtendrá la aprobación documentada por el Comité de Ética e Investigación del Hospital y el consentimiento informado antes de iniciar el estudio de acuerdo a la organización y regulación de las normas y leyes locales.

7.2. Consentimiento Informado

Cada paciente debe otorgar su autorización. Ésta estará constatada en un documento llamado “Consentimiento Informado”, en el que se desglosa de manera detallada y con lenguaje claro al paciente, los beneficios y los posibles riesgos que se tienen al estar sujeto a la investigación (Ver Anexo).

Al obtener y documentar el consentimiento informado, el investigador debe cumplir con los requerimientos regulatorios aplicables y adherirse a las buenas prácticas clínicas y a los principios éticos que tienen su origen en la Declaración de Helsinki y sus enmiendas.

Antes de ser admitido en el estudio, el equipo de investigación o una persona designada debe informar al paciente o su representante legal, en caso de que el paciente no pueda otorgar su autorización, sobre todos los aspectos pertinentes del estudio, incluyendo información escrita y la aprobación favorable para la

conducción del estudio (protocolo) y de la hoja de Consentimiento Informado del paciente por parte del Comité de Investigación y Ética del Hospital.

8. RECURSOS PARA EL ESTUDIO.

8.1 Recursos humanos

Médicos y Doctores en Ciencias Biomédicas adscritos a la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI IMSS (HECMN). Médicos adscritos al servicio de Gastrocirugía y médicos residentes del HE CMN. Médicos Residentes de Cuidados intensivos, de la UCI del HECMN.

8.2 Recursos materiales

Instalaciones de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica y Quirófanos del HE CMN.

Reactivos y equipo de la UIM en Inmunoquímica del Hospital de Especialidades del CMN siglo XXI.

Instrumental y equipamiento del Servicio de Gastrocirugía y Cuidados Intensivos del Hospital de Especialidades del CMN siglo XXI.

9. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

9.1. Revisión bibliográfica: septiembre del 2005.

9.2. Elaboración del protocolo: septiembre-noviembre del 2005.

9.3. Presentación al comité de investigación del HECMN en enero 2006.

9.4. Adquisición de material: enero del 2006.

9.5. Captura y seguimiento de pacientes: febrero del 2006 a enero del 2007.

9.6. Procesamiento de muestras y análisis de resultados: febrero del 2007 a marzo del 2007.

10. RESULTADOS .

Se estudiaron 25 pacientes , de los cuales 16 correspondieron al sexo masculino (64%) y nueve pacientes al sexo femenino (36%) ; con promedio de edades de 56.5+ 18.3 años (23-28años). Los pacientes se dividieron para un tipo de análisis en pacientes con sepsis y en pacientes con sepsis severa o choque séptico ,con base en la clasificación del ACCP/SCCM; y para el otro análisis, de acuerdo a la supervivencia , en pacientes que vivieron y en aquellos que fallecieron. El promedio de edad del grupo de pacientes sépticos que sobrevivieron fue de 45.22+ 18.06 años (n=9) y de los que fallecieron 62.7+ 15.80 años (n=16), con un valor de $p=0.019$. La proporción de pacientes del sexo masculino y del femenino que sobrevivieron fue de 55.55% y de 44.44% respectivamente ; y de los que fallecieron de 31.25% vs 68.75%, mujeres y hombres respectivamente ($p=0.509$) (Cuadro I).

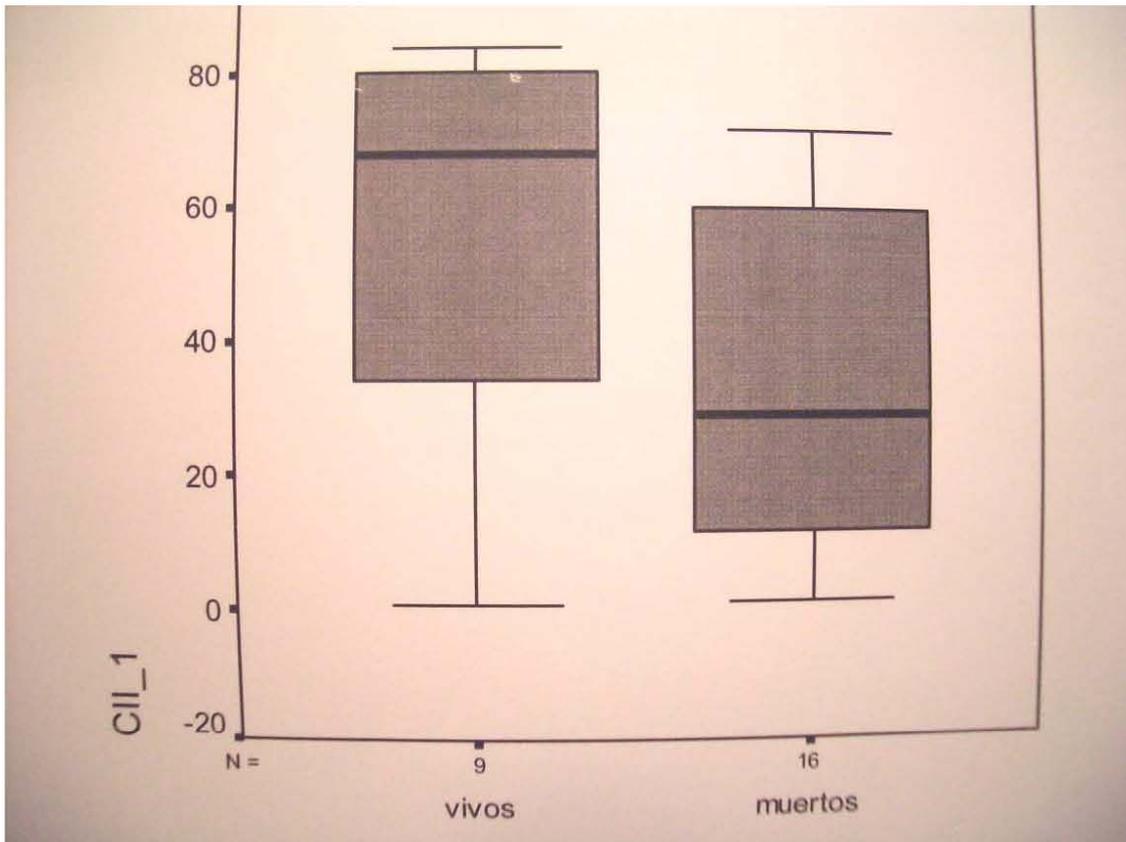
	Edad	DE	valor de p*	Sexo	%	valor de p [†]
Vivos (n = 9)	45.33 ± 18.06 años		0.019	♀	44.44	0.509
				♂	55.55	
Muertos (n = 16)	62.75 ± 15.80 años			♀	31.25	
				♂	68.75	

* Estadísticos de Levene y t de Student, † Estadístico chi²

Dentro de los 25 pacientes con sepsis, 16 se incluyeron en el grupo de sepsis severa o choque séptico , y nueve pacientes en el grupo de sepsis; con promedio de edad de 56.1 años y de 57.3 años respectivamente. La mortalidad obtenida con esta división fue de 52% (n=13) para los pacientes con sepsis severa o choque séptico y de 16% (n=4) dentro del grupo de sepsis.

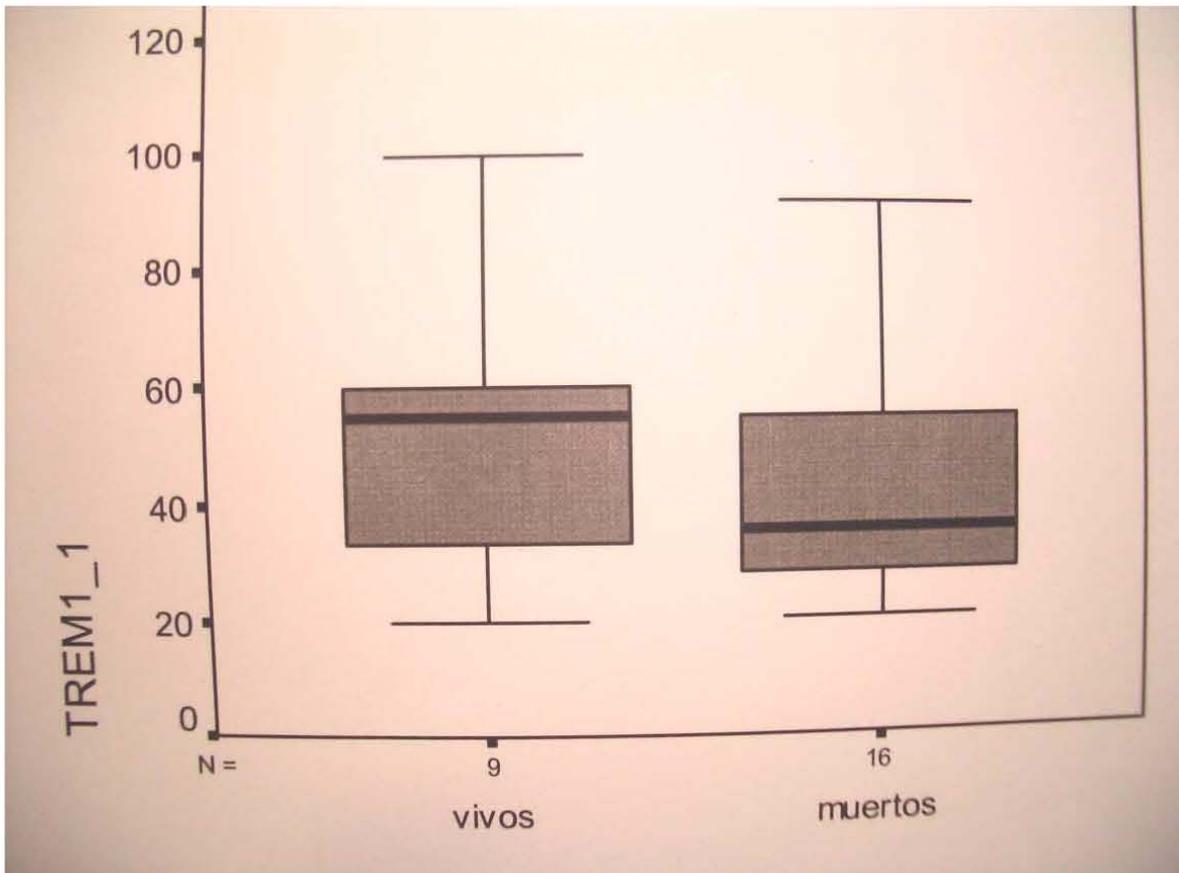
Se hizo un seguimiento clínico y molecular , el primero a través de las hojas de recolección de datos durante todo el tiempo de su estancia en el hospital, y el segundo a través de la obtención de con cinco muestras, con intervalo entre una y otra de 48 horas. Sin embargo , en este trabajo se incluyen únicamente resultados analizados de la primera toma. El análisis del resto de las muestras será reportado posteriormente. La razón de esta arbitraria decisión fue hacer un análisis de las muestras incluyendo a todos los pacientes, ya que por obvias razones, algunos mejoraron , otros egresaron, y otros fallecieron en forma temprana, por lo que no todos los pacientes tienen el mismo número de muestras a analizar.

Dicho lo anterior , el promedio obtenido de moléculas MHCII en la primera medición fue del 41.6%+- 28.7% (1.1-83.63%) (Fig. 1); y respecto a TREM-1 los valores obtenidos , fueron de 50.1+-29.1 (20.2-147) (Fig.2)



Sobrevida

Figura 1: Distribución de los valores de MHCII en la primera muestra, respecto a la sobrevida



Sobrevida

Figura 2. Distribución de los valores de TREM-1 en la primera muestra

Se aplicaron pruebas estadísticas no paramétricas para identificar diferencias en los promedios de los valores obtenidos para MHCII en los pacientes que sobrevivieron, así como en los que fallecieron, identificando el punto de corte pronóstico más representativo, además de aplicar medidas de asociación (cuadro

II). Realizando el mismo procedimiento estadístico respecto a los valores de TREM-1 (cuadro III).

Cuadro II. Asociación de MHCII en primera muestra con muerte (n=25)

CII	Sobrevida				Total	
	Muertos		Vivos		n	%
	n	%	n	%		
≤ 55	12	(48)	3	(12)	15	(60)
> 55	4	(16)	6	(24)	10	(40)
Total	16	(64)	9	(36)	25	(100)

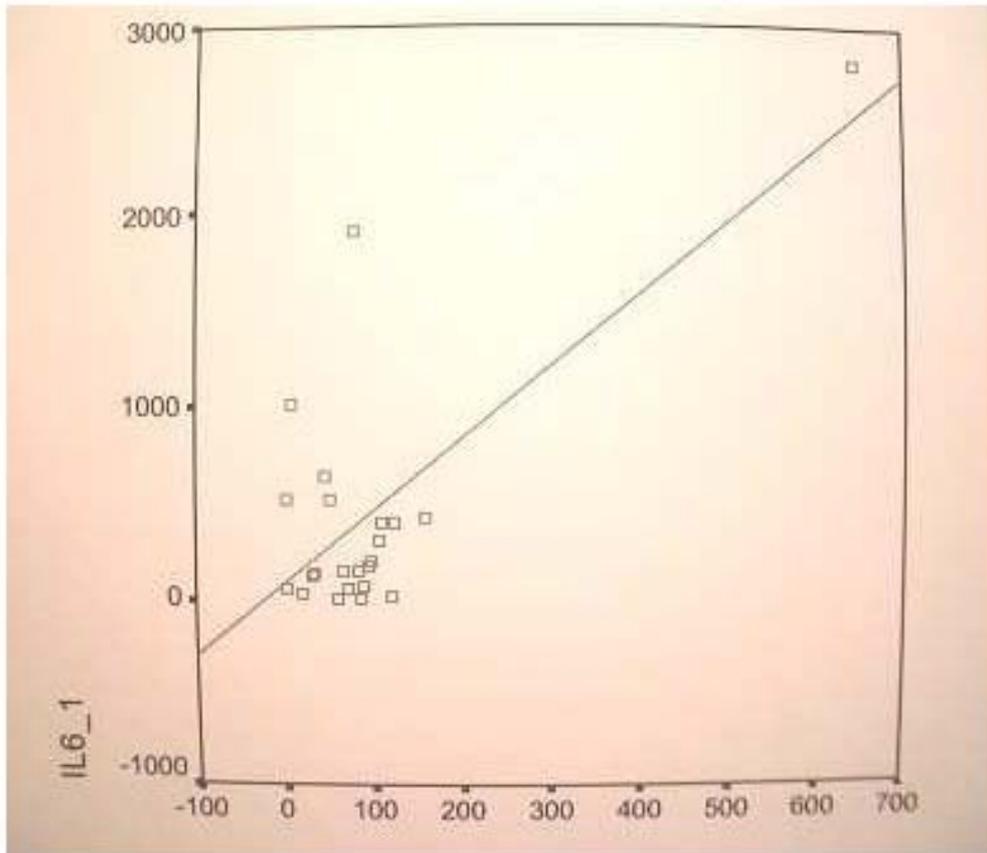
Chi², valor de p = 0.041, OR = 6 IC 95%(1.0-35.9), Poder = 65.39%
 Riesgo atribuible proporcional a la exposición = 50%

Cuadro III. Asociación de TREM-1 con muerte (n=25)

TREM-1	Sobrevivida				Total	
	Muertos		Vivos		n	%
	n	%	n	%		
≤ 54.7	13	(52)	4	(16)	17	(68)
> 54.7	3	(12)	5	(20)	8	(32)
Total	16	(64)	9	(36)	25	(100)

Chi², valor de p = 0.058, OR = 5.4 IC 95%(0.87-33.3), Poder = 57.62%
 Riesgo atribuible proporcional a la exposición = 50%

Respecto a los valores de IL-6 e IL-10 en la primera medición se tuvieron las muestras completas para su análisis solo en 23 pacientes, a las cuales se aplicó r de Pearson para identificar la tendencia que presentaron todos los pacientes sépticos (fig. 3), en el grupo de pacientes sépticos que sobrevivieron (fig.4) y en el grupo de pacientes sépticos que fallecieron (Fig.5).



IL 10_1

Figura 3. Correlación de entre IL-6 e IL-10 en pacientes sépticos,
r Pearson 0.717, valor de $p < 0.001$ (n=23)

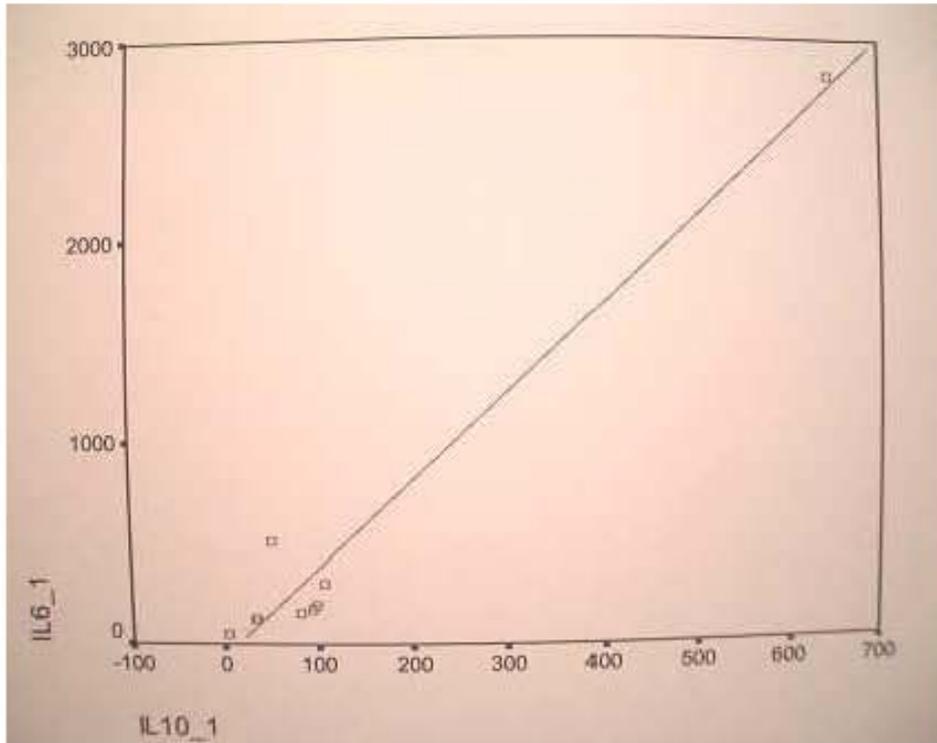


Figura 4. Correlación entre IL-6 e IL-10 en pacientes sépticos vivos, r de Pearson 0.981, valor de $p < 0.001$ (n=9)

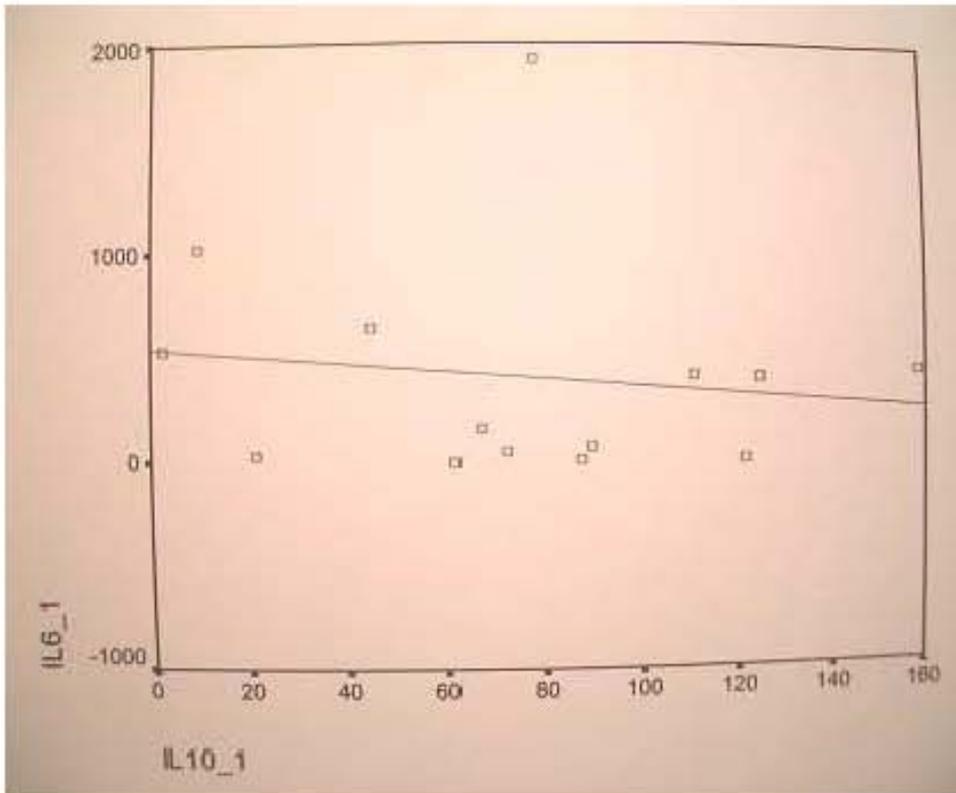


Figura 5. Correlación entre IL-6 e IL-10 en pacientes sépticos muertos
 r de Pearson -0.155, valor de p 0.596 (n=14).

11. Discusión.

El interés de los últimos años por conocer el comportamiento molecular en la sepsis se entiende por varios aspectos. Uno de estos es el incremento en la frecuencia de la enfermedad, como lo muestran los datos reportados por el Centro para Control de las Enfermedades (Centre for Disease Control CDC) en los Estados Unidos de Norte América, que reportan un incremento de 73.6 por 100,000 pacientes en 1979 a 175.9 por 100,000 pacientes en 1989³⁰. Este

fenómeno o fue exclusivo para los Estados Unidos, también el Reino Unido reporta un crecimiento³¹. Existen múltiples factores asociados con este incremento, pero dentro de los más importantes se encuentran el incremento en la sobrevivencia de la población, lo que hace que tengamos pacientes con mayor edad hospitalizados por diferentes afecciones. Así mismo, la utilización de una terapia médica invasiva (a través del uso de catéteres uretrales, venoclisis, catéteres centrales, procedimientos endoscópicos, cateterismos, etc.)³¹⁻³³. Otro factor tan importante como el incremento en la frecuencia, es el incremento en la mortalidad.

Aunque los reportes varían de un estudio a otro, esta se estima del 35 al 40% siendo mayor para los pacientes que tienen sepsis severa y choque séptico, que para aquellos con sepsis únicamente³⁴. Y en último lugar de los que describiremos, pero no por eso menos importante está el aspecto económico; la atención de un paciente con este tipo de padecimiento es muy costosa³⁵.

Un paso decisivo para el inicio de la comprensión de la enfermedad fue el poder de unificar criterios para definir a la sepsis a través de grupos de trabajo en diferentes oportunidades. En el año de 1991 se propusieron definiciones para la sepsis, el SIRS, el CARS, la sepsis severa, el choque séptico, etc²⁹. Con el paso del tiempo, se ha visto que estas definiciones si bien útiles para unificar criterios, aun no son ideales, especialmente la del SIRS, ya que es inespecífica, limitada y subjetiva, con poca especificidad y escaso significado pronóstico³⁶. Por ello continua trabajando tratando de ser más específico en esta área³⁷.

En nuestros resultados la distribución de la edad no fue homogénea, la gente mayor de 60 años presentó mayor mortalidad, sin embargo, a distribución en relación al sexo fue homogénea, sin diferencias estadísticamente significativas.

Referente a los valores del MHCII y TREM-1 fueron considerablemente mayores en el grupo de los vivos, alcanzando significado estadístico solo para MHCII presentando 6 veces más el riesgo de muerte el grupo que tuvo valores de MHCII en la primera muestra igual o menor a 55%.

En relación al TREM1, es esperable a mejora del significado estadístico al incrementar el número de pacientes, en relación a la determinación del riesgo de muerte, debido a que el poder muestral aún es bajo, sin quedar claro aun el punto de corte. En este sentido, Isibasi y colaboradores(manuscrito en preparación), encontraron que la disminución en la expresión de las moléculas del MHCII en pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos , se asocia 13 veces mayor riesgo de mortalidad, utilizando también la primera muestra para su estudio, con un punto de corte de 55%. Desde hace más de una década, se estudia la supresión inmunológica en pacientes sépticos, en los que correlacionan una disminución en la expresión de moléculas MHCII con la severidad de la sepsis y el desenlace del paciente. Estos resultados contrastan con el reportado por Hensler y colaboradores, en el que la expresión de moléculas MHCII no parece tener correlación con la evolución postoperatoria³⁸. Tschaikowsky y colaboradores reportan que los pacientes sépticos que sobreviven presentan disminución en a expresión de moléculas MHCII al inicio del seguimiento, y posteriormente notan incremento en la expresión para el día 14. También encuentran disminución en la

expresión de MHCII en pacientes que fallecen, con recuperación de la expresión a la mitad del periodo de observación y nueva disminución para el final, día 14³⁹.

Nuestros resultados apoyan lo observado por este último autor en lo referente al comportamiento de MHCII de los sépticos sobrevivientes. Y encontramos el punto de corte para poder determinar el pronóstico en función de esta molécula en 55%.

En cuanto a TREM-1, los resultados contrastan con los reportes de Gibot, quien encuentra incremento en la expresión de este receptor en pacientes portadores de sepsis⁴⁰, pero nuestros resultados no correlacionan con el incremento del que estos autores hablan. Justamente el estudio de pacientes sépticos de reciente inicio, fue para evaluar la expresión de TREM-1 en sujetos que ya cuentan con un proceso infeccioso corroborado, esperando el incremento de esta expresión.

En el trabajo analizamos el comportamiento molecular de IL-6, IL-12, IL-10 y Proteína C Reactiva. Los resultados de IL-12 y la Proteína C Reactiva no mostraron diferencia estadísticamente significativa y los resultados no se muestran. Respecto a la correlación que existe entre IL-6 e IL-10, esta fue muy buena; identificándose así el predominio de la anti-inflamación sobre la pro-inflamación en pacientes sépticos. Siendo dicha correlación aún mejor cuando se analizó solo en el grupo de sobrevivientes, pero nula cuando se analizó en el grupo que falleció. Era tradicional que en los pacientes sépticos se tratara de hacer una correlación entre la concentración de citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) y el pronóstico del paciente, sin embargo, posteriormente se empezó a encontrar significancia en el incremento en las concentraciones de citocinas anti-inflamatorias con la evolución de los pacientes. Así las citocinas

anti-inflamatorias IL-10, TGF- β , IL1ra, sTNFR-1 y sTNFR-II comenzaron a cobrar importancia, no solo por sus funciones biológicas, sino que además por su posible papel como moléculas predoctoras de la evolución de los pacientes; junto con el ya ganado lugar para dicha función, de las citocinas pro-inflamatorias como la IL-6⁴¹⁻⁴³. A pesar de que la IL-6 se ha manejado siempre como una citosina pro-inflamatoria, existen reportes en los que se les da también un papel anti-inflamatorio, ya que IL-6 no tiene capacidad de regular positivamente la expresión de mediadores inflamatorios como las prostaglandinas, el óxido nítrico o la metaloproteínas. No se encuentra involucrada en la síntesis de moléculas de adhesión y su administración no genera una respuesta similar al choque endotóxico⁴⁴. Xing y colaboradores reportan el papel anti-inflamatorio local y sistémico de IL-6, utilizando ratones IL-6^{-/-} y estimulándolos con LPS. Encontraron incremento evidente en la producción de TNF- α , MIP-2, GM-CSF e INF- γ , en este grupo de ratones dobles negativos, en comparación con la disminución en su expresión en los ratones IL-6^{+/+}⁴⁵. IL-10 por su parte, tiene un papel anti-inflamatorio cada vez mejor definido⁴⁶, sin embargo, quizá uno de los efectos mas sobresalientes de esta citosina es a través de la regulación negativa de a MHCII⁴⁷, probablemente a través de la inducción de la endocitosis de las moléculas de MHCII, como lo demuestran Fumeaux y colaboradores utilizando anticuerpos anti-IL-10 en monolitos de pacientes con sepsis⁴⁸.

Tradicionalmente se habla de una respuesta pro-inflamatoria inicial en el SIRS, responsable de diferentes alteraciones; seguido de una respuesta anti-inflamatoria cuya función es compensar la primera, pero que en ocasiones es de tal magnitud,

que produce el CARS. En nuestro trabajo no determinamos la concentración de citocinas pro-inflamatorias como TNF- α e IL-1 β , especialmente por su vida media tan corta, pero identificamos el aumento de la expresión de IL-6 e IL-10. Con los antecedentes de que IL-6 puede considerarse como una molécula anti-inflamatoria, y con el incremento de IL-10, que juntas tienen una correlación de 0.71, y con la disminución de moléculas de clase II, podemos decir que en los pacientes sépticos, pese a que por definición deben tener un SIRS, el comportamiento es el de anti-inflamación (CARS). De esta forma, quizá una forma de referirse al estado de estos pacientes sea simplemente "INFLAMACIÓN" o bien un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Mixta (MIRS).

También llama la atención que la correlación de IL-6 con IL-10 mejora en los pacientes sépticos que sobreviven, contrariamente a lo que pasa con esta correlación e los pacientes que fallecen, en donde obtenemos 0.98 y -0.1 respectivamente. Es probable que uno de los factores que favorezcan la sobrevida, entre otros, sea la tendencia a encontrar la hemostasis de estas dos moléculas, ya que en el caso de los pacientes con desenlace fatal, no puede encontrarse ninguna correlación, y quizá estemos hablando del conocido estatus de disonancia inmunológica, acompañado de disminución en la expresión de TREM-1, reportada como una molécula que amplifica la respuesta inflamatoria.

12. CONCLUSIONES

La respuesta inmune inflamatoria excesiva puede llevar a la generación de una inflamación sistémica, sepsis o choque séptico, por lo que para proteger el organismo se genera una reacción anti-inflamatoria compensadora a través de diferentes mediadores humorales como la IL-10 y la IL-6, IL-1ra, TNFRs, etc, que pueden llevar hacia la homeostasis. El proceso inflamatorio involucra a diferentes actores, con diferentes funciones de acuerdo al tiempo y lugar donde tienen que actuar, por lo que existe una acción simultánea entre todos, sin embargo, que en ciertas ocasiones pueden predominar unas sobre otras. El balance de la inflamación no se podría explicar de otra forma si no intervinieran mecanismos generados a partir del sistema nervioso central; reportes de la década de los 90s lo proponen⁴⁹ y ahora cobran fuerza con los estudios realizados por Tracey y colaboradores⁵⁰. Además, el organismo tiene otros sistemas reguladores para lograr la compensación a diferentes niveles, que ahora se empiezan a conocer mejor¹¹.

Uno de los objetivos del presente trabajo era caracterizar el comportamiento de TREM-1 en pacientes con un padecimiento infeccioso, esperando encontrar incremento en la expresión, sin embargo, no encontramos este incremento. Gibot y colaboradores proponen a TREM-1 como una molécula que predice la presencia de infecciones. Nosotros quizá podamos encontrar una correlación con el pronóstico del paciente, pero hace falta incrementar el número de pacientes para llegar a conclusiones más sólidas. Por otro lado, existen otros marcadores

que han probado su eficiencia para el diagnóstico de sepsis en casos de SIRS de etiología no conocida⁵¹.

MHCII es una molécula que predispone a la presencia de infecciones, sin embargo, en pacientes sépticos, la disminución en su expresión se asocia a mal pronóstico, con un punto de corte de 55%, superior a lo que otros autores habían propuesto para definir el CARS (30%), pero en relación al pronóstico del paciente.

13. PERSPECTIVAS.

Actualmente se está realizando la caracterización de las moléculas del MHCII y de TREM-1 en mayores de 60 años sanos, para tener un punto de comparación con nuestro grupo de pacientes sépticos mayores de 60 años.

Se analizará el resto de las muestras para conocer el comportamiento de todas las moléculas, tanto MHCII, TREM-1 y citocinas, durante la evolución de nuestros pacientes.

Se realizarán estudios prospectivos, con otro tipo de pacientes y con mayor número de ellos, para corroborar que la disminución en la expresión de las moléculas MHCII y el incremento de TREM-1, en los puntos de corte establecidos, se asocian con mal pronóstico.

14. REFERENCIAS:

1. Boontham P, Chandran P, Rowlands B et al. Surgical sepsis: dysregulation of immune function and therapeutic implications. *Surgeon* 2003; 1:187-206.
2. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20:864-874.
3. Alberti C, Brun-Buisson C, Chevret S et al. Systemic inflammatory response and progression to severe sepsis in critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:461-468.
4. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348:138-150.
5. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. The enigma of sepsis. *J Clin Invest* 2003; 112:460-467.
6. Lowry SF, Awad S, Ford H et al. Static and dynamic assessment of biomarkers in surgical patients with severe sepsis. *Surg Infect (Larchmt)* 2004; 5:261-268.

7. Sherwood ER, Toliver-Kinsky T. Mechanisms of the inflammatory response
Best Pract Res Clin Anaesthesiol 2004; 18:385-405.
8. Luster AD, Alon R, von Andrian UH. Immune cell migration in inflammation:
present and future therapeutic targets. Nat Immunol 2005; 6:1182-1190.
9. Riewald M, Ruf W. Science review: role of coagulation protease cascades in
sepsis. Crit Care 2003; 7:123-129.
10. Ulevitch RJ, Mathison JC, da Silva CJ. Innate immune responses during
infection. Vaccine 2004; 22 Suppl 1:S25-S30.
11. Han J, Ulevitch RJ. Limiting inflammatory responses during activation of
innate immunity. Nat Immunol 2005; 6:1198-1205.
12. O'Neill LA. How Toll-like receptors signal: what we know and what we don't
know. Curr Opin immunol 2006; 18:3-9.
13. Martin C, Boisson C, Haccoun M et al. Patterns of cytokine evolution (tumor
necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic
shock, and severe trauma. Crit Care Med 1997; 25:1813-1819.

14. Lyons A, Kelly JL, Rodrick ML et al. Major injury induces increased production of interleukin-10 by cells of the immune system with a negative impact on resistance to infection. *Ann Surg* 1997; 226:450-458.
15. Weigand MA, Horner C, Bardenheuer HJ et al. The systemic inflammatory response syndrome. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2004 ; 18 :455-475.
16. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 1996; 24:1125-1128.
17. Munford RS, Taunay AE, de Morais JS et al. Spread of meningococcal infection within households. *Lancet* 1974; 1:1275-1278.
18. Wang H, Liao H, Ochani M et al. Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis. *Nat Med* 2004; 10:1216-1221.
19. Dodek P, Keenan S, Cook D et al. Evidence-based clinical practice guideline for the prevention of ventilator-associated pneumonia. *Ann Intern Med* 2004; 141:305-313.

20. Alberti C, Brun-Buisson C, Chevret S et al. Systemic inflammatory response and progression to severe sepsis in critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:461-468.
21. Sands KE, Bates DW, Lanken PN et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. *JAMA* 1997; 278:234-240.
22. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M et al. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA* 1995; 276:117-123.
23. Vabulas RM, Ahmad-Nejad P, Ghose S et al. HSP70 as endogenous stimulus of the toll/interleukin-1 receptor signal pathway. *J Biol Chem* 2002; 277:15107-15112.
24. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat Med* 2003; 9:517-524.
25. Bouchon A, Dietrich J, Colonna M, Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes 1. *J Immunol* 2000; 164:4991-4995.

26. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA et al. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *J Nature* 2001; 410:1103-1107.
27. Bleharski JR, Kiessier V, Buonsanti C et al. A role for triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in host defense during the early-induced and adaptive phases of the immune response. *J Immunol* 2003; 170:3812-3818.
28. Gibot S, Le Renard PE, Bollaert PE et al. Surface triggering receptor expressed on myeloid cells 1 expression patterns in septic shock. *Intensive Care Med* 2005; 31:594-597.
29. Bone RC, Balk RA, Cerra FB et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use for innovative therapies in sepsis. The ACCP-SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101:1644-1655.
30. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10:444-465.
31. Crowe M, Ispahani P, Humphreys H et al. Bacteraemia in the adult intensive care unit of teaching hospital in Nottingham, UK, 1985-1996. *Eur J clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17:377-384.

32. Lark RL, Chenoweth C, Saint S et al. Four year prospective evaluation of nosocomia bacteremia: epidemiology, microbiology, and patient outcome. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 38:131-140.
33. Ponce de Leon-Rosales SP, Molinar-Ramos F, Dominguez-Cherit G et al. Prevalence of infections in intensive care units in Mexico: a multicenter study. *Crit care med* 2000; 28:1316-1321.
34. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lindicker J et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29:1303-1310.
35. Rice TW, Bernard GR. Therapeutic intervention and targets of sepsis. *Annu Rev Med* 2005; 56:225-248.
36. Ulloa L, Tracey KJ. The "cytokine profile": a code for sepsis. *Trends Mol Med* 2005; 11:56-63.
37. Calandra T, Cohen J. The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Crit Care med* 2005; 33:1538-1548.

38. Hensler T, Hecker H, Heeg K et al. Distinct mechanism of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun* 1997; 65:2283-2291.
39. Tschaikowsky K, Hedwing-Geissing M, Schiele A et al. Coincidence of pro- and anti-inflammatory responses in the early phase of severe sepsis: Longitudinal study of molecular histocompatibility leukocyte antigen-DR expression, procalcitonin, C-reactive protein, and changes in T-cell subsets in septic and postoperative patients. *Crit Care Med* 2002; 30:1015-1023.
40. Gibot S, Cravoisy A, Kolopp-Sarda MN et al. Time-course of sTREM (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells)-1, procalcitonin, and C-reactive protein plasma concentrations during sepsis. *Crit Care Med* 2005; 33:792-796.
41. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP et al. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis* 2000; 181:176-180.
42. Gebhard F, Pftsch H, Steinbach G et al. Is interleukin 6 an early marker of injury severity following major trauma in humans? *Arch Surg* 2000; 135:291-295.

43. Riche FC, Cholley BP, Panis YH et al. Inflammatory cytokine response in patients with septic shock secondary to generalized peritonitis. *Crit Care Med* 2000; 28:433-437.
44. Barton BE. IL-6: insights into novel biological activities. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 85:16-20.
45. Xing Z, Gaudie J, Cox G et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 1998; 101:311-320.
46. Grutz G. New insights into the molecular mechanism of interleukin-10-mediated immunosuppression. *J Leukoc Biol* 2005; 77:3-15.
47. de Waal MR, Abrams J, Bennett B et al. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991; 174:1209-1220.
48. Fumeaux T, Pugin J. Role of interleukin-10 in the intracellular sequestration of human leukocyte antigen-DR in monocytes during septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:1475-1482.

49. Woiciechowsky C, Schoning B, Lanksch WR et al. Mechanisms of brain mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression. *J Mol Med* 1999; 77:769-780.

50. Ulloa L. The vagus nerve and the nicotinic anti-inflammatory pathway. *Nat rev Drug Discov* 2005; 4:673-684.

51. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care med* 2001; 164:396-402.

15. ANEXOS

Anexo APACHE II

Variable fisiológica	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperatura rectal °C	> 41	39-40.9		38.5-38	36-38.4	34-35.9	32-33	30-31	<29.9
Presión arterial media mmHg	>160	130-159	110-129		70-109		50-69		<49
Frecuencia cardíaca	>180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	<39
Frecuencia respiratoria	>50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		<5
Oxigenación: A-aDO ₂ ó PaO ₂ (mmHg)									
a FiO ₂ >0.5 con A-aDO ₂	>500	350-499	200-349		<200				
b FiO ₂ <0.5 con PaO ₂					PO ₂ >70	PO ₂ 61-70		PO ₂ 55-60	PO ₂ <55
pH arterial	> 7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.32	7.15-7.24	< 7.15
Sodio sérico mMol/L	> 180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	< 110
Potasio sérico mMol/L	> 7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Creatinina sérica (mg/100ml)									
Doble puntuación con (IRA)*	>3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hematocrito	> 60		50-59.9	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
Leucocitos (mm ³)	>40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
Escala Glasgow: 15-valor actual									
APS= suma de las 12 variables									
HCO ₃ sérico	> 52	41-51.9		32-40.9	22-31		18-21.9	15-17	<15

*IRA= Insuficiencia renal aguda.

B: Asignación de la puntuación por edad: <44-0 puntos, 45 a 54-2 puntos, 55 a 64-3 puntos, 65 a 74-5 puntos, > 75-6 puntos.

C: Asignación de la puntuación por enfermedad crónica: Paciente con antecedentes de falla orgánica sistémica severa o inmunocomprometido:

a) para pacientes no operados o bien operados de emergencia 5 puntos.

b) para pacientes postoperados de forma electiva 2 puntos.

Definiciones: Antecedentes previos hospitalarios de insuficiencia orgánica o inmunosupresión, adecuarse a los siguientes criterios.

Hígado: cirrosis corroborada por biopsia e hipertensión portal documentada (antecedentes de sangrado gastrointestinal, falla hepática o encefalopatía hepática).

Cardiovasculares: De acuerdo a la NYHA Clase IV. Respiratorio: Enfermedad obstructiva crónica, restrictiva o enfermedad vascular, que condicionan restricción estricta de ejercicio. Renal: diálisis crónica. Inmunocompromiso: Antecedente de haber recibido terapia supresiva o enfermedad con disminución en la resistencia a la infección.

APACHE SCORE II es la sumatoria de A + B + C (A= APS; B= edad; C= enfermedad crónica)

México, D. F., a _____ de _____ de 200 ____.

Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, Servicio de Gastrocirugía.

Carta de consentimiento informado

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado

**“PARTICIPACION DEL TREM-1 (TRIGGERING RECEPTOR EXPRESSED ON
MYELOID CELLS-1) COMO SEÑAL TEMPRANA DE INFECCIÓN, EN LA
EVOLUCIÓN DE PACIENTES QUIRÚRGICOS, CON RESPUESTA
INFLAMATORIA SECUNDARIA”**

El objetivo del estudio es comprender mejor la respuesta inflamatoria en pacientes sépticos. Esto se logrará mediante la determinación de TREM-1 en la superficie de las células sanguíneas. Se me ha explicado que mi participación consistirá en la donación de 8 mL de sangre venosa cada 48 horas con un total de 5 tomas. La sangre se obtendrá mediante punción en vena periférica o a través de catéter central.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, y molestias, que se reducen a la incomodidad derivada de la punción en venas periféricas. Yo no obtendré beneficio al participar en este protocolo.

El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo

del Instituto. Así mismo, podré ser retirado del estudio en caso de que cumpla con alguno de los criterios de exclusión.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Podré contactar al investigador responsable en el teléfono 56-27-69-15 a nombre del Dr. Eduardo Ferat Osorio.

Nombre y firma del paciente

Dr. Eduardo Ferat Osorio

Testigo

Testigo

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS.

“PARTICIPACION DEL TREM-1 (TRIGGERING RECEPTOR EXPRESSED ON MYELOID CELLS-1) COMO SEÑAL TEMPRANA DE INFECCIÓN, EN LA EVOLUCIÓN DE PACIENTES QUIRÚRGICOS, CON RESPUESTA INFLAMATORIA SECUNDARIA”

Hoja 1

Identificación

Nombre.			
Filiación			
Iniciales Paciente	Apellidos y nombre		
Fecha ingreso Hospital		Fecha primera toma	
Edad		Teléfono	
Cama			

Antecedentes personales no patológicos

Peso		Talla		1 Hombre	2 Mujer	
1 Tabaco	2 Alergias	3 Alcohol	4 Transf.	5 Toxicom.		
6 Ninguno			Otros			

Antecedentes personales patológicos

Diabetes M		Cirugía Gástrica	
Hipertensión Arterial		Cirugía Esofágica	
Cardiopatía isquémica		Cirugía Intestino delgado	
Cirugías Extra-gastrointestinales		Cirugía de Colon	
		Cirugía de Páncreas	
		Cirugía Esplénica	
		Cirugía Hígado	
		Cirugía de Vías Biliares	
		Cirugía de Hernias de Pared	

Padecimiento actual

Diagnóstico de Ingreso	
1.	
2.	
3.	
Fecha de inicio del padecimiento actual	
Diagnóstico pre-operatorio	
1.	
2.	
3.	

Fecha de cirugía

Diagnóstico Post-operatorio

1.				
2.				
3.				
4.				
SRIS Px. No Qx		SRIS Pre-op		SRIS Post-op
Sepsis Px No Qx		Sepsis Pre-op		Sepsis Post-op
Fecha inicio de SRSI		Fecha de inicio Sepsis		
APACHE II (en cuatro determinaciones)				
Ingreso	Primera	Segunda	Tercera	Cuarta

Procedimiento anestésico.

Técnica Anestésica

Parámetros Transop. Preoperatorio Transoperatorio Fin de cirugía

Frecuencia Cardíaca

pH

Saturación arterial

Exceso de Base

Bicarbonato

Saturación Venosa

Hemoglobina

Hematócrito

Resumen estancia hospitalaria del paciente

Días de estancia hospitalaria			
Fecha de alta			
Motivo del alta	1 Recuperación	2 Defunción	
Diagnóstico egreso			
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			

Hoja 2. Medicamentos. Nombre del paciente
 Número de expediente Número de paciente

Medicamentos.

Antibióticos	Dosis	Fecha de inicio	F. de termino	Observaciones
Analgésicos				
Aminas				
Otros				

Hoja 4. Laboratorio. Nombre del paciente.

Número de expediente.

Número de paciente.

Laboratorio: producto/día

Producto													
Hemoglobina													
Glucosa													
Urea													
Creatinina													
Prot C reac.													
Plaquetas													
TP													
TTP													
Linfocitos													
Monocitos													
Neutrófilos													
Eosinófilos													
Temperatura													
F C													
F R													
Pa O2													
Pa CO2													
Leucocitos													

Hoja 5. Parámetros. Nombre del paciente.
Número de expediente.
Número de paciente.

Procedimientos invasivos

Tipo de procedimiento	Fecha instalación/inicio	F. retiro	Observaciones/Motivo
Hemodiálisis			
Catéter central			
Ultrasonido			
Tomografía			
Cultivos			
Cultivos			
Cultivos			

Parámetros del paciente por día/valor

DEFINICIONES APROBADAS POR EL ACCP/SCCM TERMINO	DEFINICION
SIRS	Dos o más de los siguientes criterios: temperatura >38° C o <36° C; frecuencia cardíaca >90 latidos/min; frecuencia resp 20 x/min o PaCO2< 32 torr; Leucos >12000 cells/mm3, < 4000 cells/mm3 o >10% bandas
Infección	Proceso microbiano caracterizado por la respuesta inflamatoria secundaria a la presencia de patógeno o la invasión del micro-organismo a tejidos estériles.
Sepsis	La respuesta sistémica de la infección; manifestada por dos o mas de los signos de SIRS
Bacteremia	Bacterias en la sangre
Sepsis severa	Sepsis asociada con falla orgánica, hipotensión o hipoperfusión que incluyen, pero no se limitan a: acidosis láctica, oliguria, alteraciones del estatus mental.
Choque Séptico	Sepsis con hipotensión, a pesar de una adecuada reanimación con líquidos, además de, pero no solamente, acidosis láctica, oliguria, alteraciones del estatus mental.
Hipotensión	Presión sistólica <90mmHg o una disminución > 40mmHg
Falla Orgánica Múltiple	Presencia de falla orgánica en pacientes con enfermedades agudas