



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI
"DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"



TÍTULO

"ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE IL-10 Y LA EXPRESIÓN DE SU RECEPTOR EN LEUCOCITOS CIRCULANTES CON LA SEVERIDAD Y PRONÓSTICO DE PACIENTES CON SIRS/SEPSIS".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN LA ESPECIALIDAD DE
MEDICINA INTERNA



PRESENTA

DR. GEOVANI AMADOR GARCÍA

ASESOR

DRA. LOURDES ANDREA ARRIAGA PIZANO

CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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


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


"ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE IL-10 Y LA EXPRESIÓN DE SU RECEPTOR EN LEUCOCITOS CIRCULANTES CON LA SEVERIDAD Y PRONÓSTICO DE PACIENTES CON SIRS/SEPSIS"

HOJA DE FIRMAS


DOCTORA
DIANA G. MENEZ DIAZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI




DOCTORA
MARÍA EUGENIA GALVÁN PLATA
PROFESORA TITULAR DEL CURSO
SERVICIO DE MEDICINA INTERNA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI


DOCTORA EN CIENCIAS
LOURDES ANDREA ARRIAGA PIZANO
INVESTIGADOR ASOCIADO D.
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN INMUNOQUÍMICA.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3601** con número de registro **13 CI 09 015 184** ante COFEPRIS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA **06/04/2017**

DRA. LOURDES ANDREA ARRIAGA PIZANO

P R E S E N T E

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

Asociación de los niveles séricos de IL-10 y la expresión de su receptor en leucocitos circulantes con la severidad y pronóstico de pacientes con SIRS/sepsis

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

Núm. de Registro
R-2017-3601-44

ATENTAMENTE

DR.(A). CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA

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

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

AGRADECIMIENTOS:

A mis padres, quienes todo me lo han dado y me educaron con el claro ejemplo del amor, la responsabilidad y el respeto y quienes han sido mi más grande motivación.

A mi asesora y colaboradores por el gran apoyo y tiempo dedicados a este trabajo y la oportunidad de poder colaborar con ellos.

Tabla de contenido

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
JUSTIFICACIÓN	19
HIPÓTESIS	19
OBJETIVO GENERAL	20
OBJETIVOS PARTICULARES:	20
MATERIAL Y MÉTODOS	21
Tamaño de la Muestra	24
Criterios de inclusión	24
Criterios de no inclusión	25
Criterios de exclusión	25
Criterios de eliminación	25
ASPECTOS ÉTICOS	25
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
BIBLIOGRAFÍA	42
ANEXO 1	44
ANEXO 2	46

RESUMEN

Introducción:

Durante los procesos de inflamación sistémica, como la sepsis o el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), se ha sugerido que la prevalencia de diferentes citocinas subdivide el proceso SIRS/sepsis en dos fases: pro-o anti-inflamatoria. Se ha propuesto a la IL-10 como y a su receptor como mediadores de la respuesta anti-inflamatoria o de “inmunoparálisis” durante el proceso de sepsis/SIRS.

Objetivos:

Establecer la relación entre las concentraciones séricas de IL-10 y la expresión de su receptor en leucocitos circulantes con la severidad y pronóstico en pacientes adultos diagnosticados con SIRS /sepsis.

Material y métodos

Estudio longitudinal, descriptivo, observacional y analítico. Se incluyeron pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y en el servicio de Medicina Interna del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” con diagnóstico de SIRS o sepsis de reciente inicio.

Se obtuvieron 2 grupo de pacientes, **pacientes con SIRS** los cuales cumplieron con 2 o más criterios de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y **pacientes con Sepsis** con foco infeccioso detectado y datos de falla orgánica múltiple definida como SOFA \geq 2. Se tomaron muestras de sangre periférica para realizar la cuantificación de los niveles de IL-10 en suero y la expresión del receptor IL-10R en células mieloides y su correlación clínica con el pronóstico en los pacientes con SIRS/sepsis en comparación con pacientes sanos.

Resultados:

Se observó un incremento en la concentración sérica de IL-10 en los pacientes con SIRS/sepsis en comparación con pacientes sanos, no se evidenció diferencias significativa en la expresión de su receptor entre estos grupos, no se evidenció correlación significativa de los niveles de IL-10 y su receptor con escalas de severidad de sepsis.

Conclusiones:

Los niveles de IL-10 y la expresión de su receptor en células mieloides circulantes, no se correlacionan de manera directa con la severidad y el pronóstico en pacientes con diagnóstico de sepsis/SIRS.

TÍTULO DEL PROYECTO

Asociación de los niveles séricos de IL-10 y la expresión de su receptor en leucocitos circulantes con la severidad y pronóstico de pacientes con SIRS/sepsis.

DATOS DEL ALUMNO:

Dr. Geovani Amador García
Médico Residente 4to año
Universidad Nacional Autónoma de México
Número de cuenta 514231736
Servicio de Medicina Interna
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Tel: 56276900 ext. 21909
Celular: 2222125348
geovani_ag@hotmail.com

INVESTIGADOR RESPONSABLE

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

COLABORADORES

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

Dr. Marco Antonio de León Gutiérrez
Jefe de la Unidad de Cuidados Intensivos
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Tel: 56276900 ext. 21445
marco.leong@imss.gob.mx

Dr. Armando Isibasi Araujo.
Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Ave. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores C.P.06020. México D.F.
Tel. (5255) 56-27-69-15 Ext. 21476

isibasi@prodigy.net.mx

Dr. Eduardo Ferat Osorio

Investigador Asociado A. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica y Médico adscrito al Servicio de Gastrocirugía. Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Ave. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores C.P. 06020. México D.F.

Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.

Fax 56-27-69-15

eduardoferat@prodigy.net.mx

Dr. Constantino III Roberto López Macías

Investigador Titular D. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica. Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Ave. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores C.P. 06020. México D.F.

Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.

Fax 56-27-69-15

constantino@sminmunologia.org ; constantino.lopez@imss.gob.mx

ESTUDIANTES

M. en C. Graciela Libier Cabrera Rivera

Estudiante de Doctorado en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas

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

Ave. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores C.P. 06020. México D.F.

Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.

libier_9@hotmail.com

M. en C. Alma Verónica Moreno González

Estudiante de Doctorado en Ciencias Biomédicas UNAM.

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

Ave. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores C.P. 06020. México D.F.

Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.

almav_mg@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El concepto de sepsis ha evolucionado a lo largo de los años y del desarrollo de nuevas herramientas para su diagnóstico y tratamiento, pero además para generar conocimiento de los mecanismos involucrados dentro de su fisiopatología. Esta evolución en la clínica se ha dado desde el consenso de 1991 en donde se caracterizó al síndrome de respuesta inflamatoria sistémica o SIRS (por *Systemic Inflammatory Response Syndrome*) y se definió a sepsis como la manifestación de dos o más de los criterios de SIRS y la evidencia de algún foco infeccioso (**Tabla 1**)^{1, 2}; además, se incluyeron los conceptos de sepsis severa y choque séptico; siguiendo con la revisión y complementación de estos conceptos en el segundo consenso de sepsis en 2001.¹

Tabla 1. Criterios de SIRS de la American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine (ACCP / SCCM) (Nyström 1998).

SIRS (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica)
Dos o más de los siguientes:
Temperatura >38 °C o <36 °C
Frecuencia cardiaca >90/min
Frecuencia respiratoria >20/min o PaCO₂ <32 mmHg
Leucocitos >12 000/mm³ o <4000/mm³ o >10% de bandas

En el consenso de 2016 se hicieron modificaciones a la definición de sepsis, con la inclusión de la escala de valoración secuencial de falla orgánica o SOFA (por *Sequential Organ Failure Assessment*) como uno de los criterios para el diagnóstico y pronóstico de sepsis e incluyendo los criterios de quick SOFA (qSOFA). Esta escala qSOFA es utilizada como herramienta para evaluar la posible falla orgánica o la presencia de infección en pacientes en los que no se habían identificado, esto de manera más rápida que la escala de SOFA; por no requerir determinaciones de laboratorio; todo esto con el objetivo de facilitar la

comprensión por parte del personal clínico del concepto de sepsis y la rápida identificación de los pacientes con sepsis para el inicio temprano de las terapias de soporte y reducción de la mortalidad.^{3, 4.}

Además, de acuerdo a su gravedad, se clasifica en sepsis, caracterizada por la presencia de disfunción orgánica (SOFA ≥ 2) y en choque séptico, una condición en la que persiste la hipotensión y la elevación de lactato a pesar de una adecuada reanimación^{3,1,2}, eliminando el término de sepsis severa (**Figura 1**).

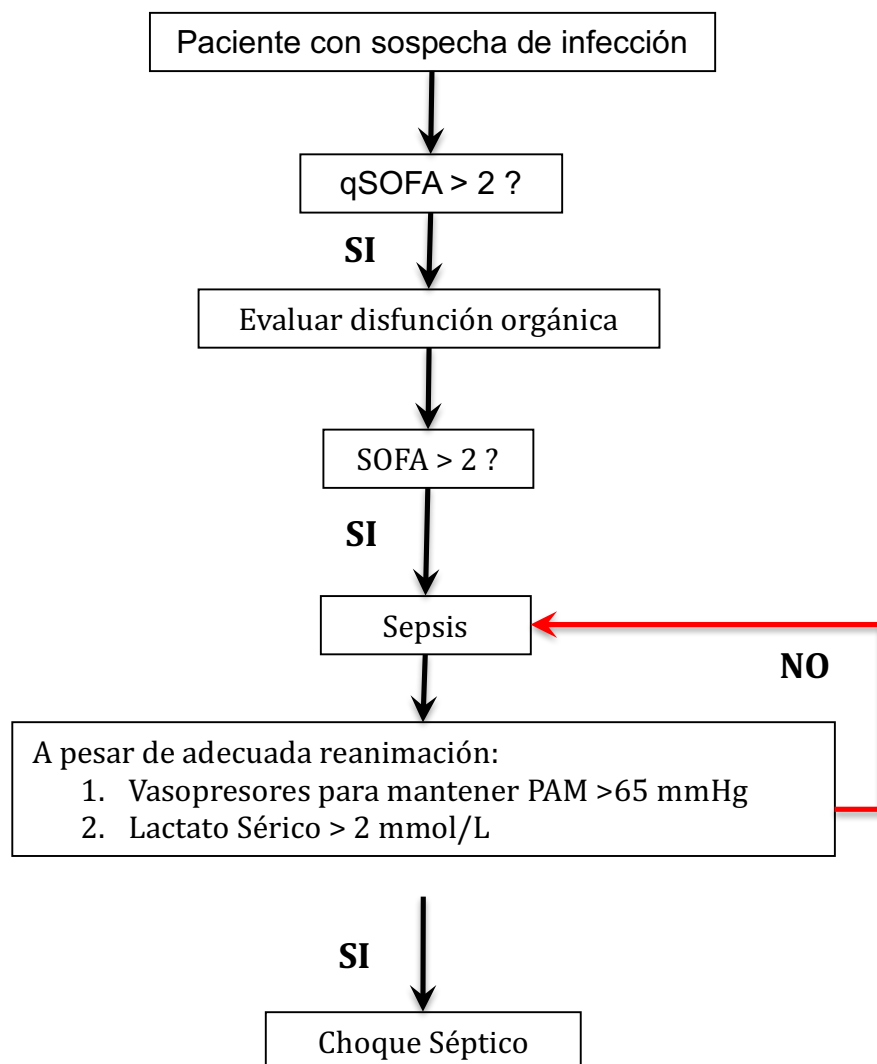


Figura 1. Guía clínica para el diagnóstico de sepsis derivada del consenso de 2016.

La mortalidad de SIRS/sepsis sigue siendo muy alta (del 40 al 80%)⁵, siendo la principal causa de muerte en las unidades de cuidados intensivos y en las salas de hospitalización de nuestro entorno, todo lo cual impacta directamente en elevados costos en el cuidado de los pacientes.⁵

Actualmente, los tratamientos se basan en medidas de soporte para garantizar la adecuada perfusión tisular de los diferentes órganos y sistemas, así como el inicio temprano de la terapia antimicrobiana, con lo que la evolución de estos pacientes ha mejorado con respecto a décadas pasadas.⁶

Aplicando estas terapias y las nuevas propuestas como lo son los anticuerpos monoclonales dirigidos hacia componentes de las cascadas del complemento o de coagulación o proteínas recombinantes como citocinas anti-inflamatorias como IL-1RA, se ha logrado disminuir las tasas de mortalidad en las primeras horas de la evolución de este padecimiento hasta un 25% mediante las medidas de reanimación tempranas establecidas en la campaña para sobrevivir a la sepsis⁶, sin embargo al ser el SIRS y la sepsis síndromes en donde se involucra la activación a nivel sistémico del sistema inmunológico y otros sistemas se siguen presentando frecuentemente complicaciones como la falla orgánica múltiple (MOF), el síndrome de inflamación persistente, inmunosupresión y catabolismo (PICS) y la enfermedad crítica crónica (CCI) definida como aquella que requiere más de 14 días de estancia en la unidad de cuidados intensivos^{7,8}. Las tasas de morbi-mortalidad por sepsis en la unidad de cuidados intensivos se incrementan por lo anterior y por el desarrollo de infecciones secundarias persistentes, recurrentes y nosocomiales lo que se hipotetiza esta relaciona con un estado de “inmuno-parálisis”.^{9, 10, 12}

Características del proceso SIRS/sepsis

El proceso de sepsis se propone que consta de una respuesta bifásica, con una fase de activación desproporcionada del sistema inmune (fase pro-inflamatoria) caracterizada por la presencia de fiebre, incremento del catabolismo, cambios en la expresión de moléculas de activación en las células (como TREM-1 y CD16) y la liberación descontrolada y sistémica de

interleucinas y quimiocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1 e IL-8)¹¹ y una fase anti-inflamatoria a la cual se le relaciona con un estado de “inmunosupresión” del paciente que se caracteriza por la secreción de interleucinas anti-inflamatorias como IL-10 y TGF- β así como una baja expresión de la molécula de histocompatibilidad de clase II o HLA-DR (por *Human Leukocyte Antigen-DR*), principalmente en los monocitos.^{10, 11}

De manera inicial, esta primera fase fue denominada como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), seguido en el tiempo por el desarrollo de una respuesta anti-inflamatoria compensatoria o CARS (por *Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome*); siendo este mecanismo el paradigma popular en los años 90 para explicar el curso complicado de estos pacientes. Sin embargo, con el paso del tiempo, se ha propuesto y aceptado que estos estados de pro-inflamación y anti-inflamación no son mutuamente excluyentes, y que pueden ocurrir de manera simultánea durante la respuesta inmune del hospedero al agente infeccioso (lo que conforma lo que algunos han denominado MARS).^{7, 11}

La fase pro-inflamatoria es iniciada durante el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos o PAMPs (por *Pathogen-Associated Molecular Patterns*) y patrones moleculares asociados a tejido dañado o DAMPs (por *Damage-Associated Molecular Patterns*) mediante receptores de reconocimiento de patrón o PRRs (*Pattern Recognition Receptors*) expresados de manera constitutiva en células del sistema inmunológico y no inmunológicas como las células epiteliales. Dependiendo de la interacción entre los PAMPs o DAMPs con los diferentes tipos de PRRs se activan diferentes vías de señalización^{3,4}. Así, para TLR2 que reconoce a lipopéptidofosfoglicano o para TLR4, que reconoce LPS, se activa MyD88 que activará a TRAF-6 y que a su vez activará a NEMO, con lo que se libera el factor de transcripción nuclear κ B o NF κ B. Éste se transloca al núcleo en donde inducirá la expresión de los genes de citocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8. A partir de MyD88 también se puede activar la vía de las MAPK, específicamente los componentes p38 y JNK, que pueden inducir la producción de TNF- α e IL-10.⁵ En el caso de TLR4, la respuesta puede ser dependiente o independiente de MyD88. En este último

caso es TRIF quien media la activación de NF- κ B. TRIF también puede mediar la activación de IRF3 con lo que se induce la producción de Interferón beta (IFN- β)^{5,6}.

Estas citocinas favorecen, junto con otros factores solubles, como las anafilotoxinas (C3a, C4a y C5a)⁵, la amplificación de la respuesta inflamatoria al inducir la producción de citocinas (como es el caso de IL-1 β que amplifica la producción de IL-6 y TNF- α), el reclutamiento de células hacia el sitio de daño (a través de IL-8, un quimiotáctico para neutrófilos), la producción de proteínas de fase aguda por el hígado (como IL-6 que induce la producción de proteína C reactiva), y la eliminación de patógenos por medio de fagocitosis (a través de C3a y C5a, que también funcionan como opsoninas favoreciendo la fagocitosis).

En esta respuesta pro-inflamatoria asociada a la producción excesiva de citocinas, hay activación del complemento y de las cascadas de coagulación de manera predominante, por lo que el desenlace del paciente puede ir hacia falla orgánica múltiple y, en ocasiones, la muerte. Sin embargo cuando el paciente sobrevive a esta fase inicial de sobre-activación del sistema inmune, la evolución de la enfermedad puede seguir dos vías alternativas; la resolución del cuadro séptico, con la consiguiente homeostasis del sistema inmunológico, o disfunción persistente del sistema inmune combinada con un estado de inflamación atenuado y la pérdida continua de la masa corporal, estado que se ha denominado síndrome de inflamación-inmunosupresión y catabolismo persistente o PICS (por *Persistent Inflammation-immunosuppression and Catabolism Syndrome*).^{7, 12}

La respuesta inflamatoria representa un proceso potencialmente dañino y de allí que existan diferentes mecanismos de regulación. La liberación de citocinas como IL-10, que inhibe la transcripción de IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-12, funcionan como mediadores anti-inflamatorios.⁶ Se ha propuesto que la resolución del proceso inflamatorio inicia de manera breve después del desarrollo de la fase pro-inflamatoria. La interleucina más estudiada en esta fase anti-inflamatoria es IL-10, producida por una variedad de células como células dendríticas (DCs), basófilos, eosinófilos, macrófagos y células T CD4.⁵

Dentro de sus principales funciones destacan la supresión de la síntesis de IL-6 y de IFN γ , así como la estimulación de la síntesis del receptor soluble de IL-6 (sIL-6R) y del receptor antagonista de interleucina 1 o IL-1RA.¹³ Además de la participación de las interleucinas anti-inflamatorias en el proceso de resolución de la inflamación, se ha descrito la participación de células T reguladoras (Tregs) y de células supresoras derivadas de la línea mieloide (MDSCs),¹⁸ que forman parte en la regulación de la producción de citocinas y de los efectos citotóxicos de las células del sistema inmune.^{5, 14}

Algunos autores proponen que si la fase anti-inflamatoria es excesiva en los procesos de SIRS/sepsis, da lugar a un estado de “inmuno-supresión” por parte del paciente, el cual a nivel de mediadores solubles se caracteriza por reducción en la síntesis de interleucinas pro-inflamatorias e incremento en la síntesis de IL-10 de manera predominante, defectos en el funcionamiento de las células presentadoras de antígeno (como los monocitos mediante la reducción en la expresión de moléculas asociadas a la activación de estas células como HLA-DR), con la consiguiente reducción en la capacidad de inducción de la respuesta inmune adaptativa dada por los linfocitos T y por último se ha reportado la apoptosis excesiva de linfocitos y células dendríticas.^{10, 11}

Recientemente, Boomer y colaboradores, caracterizaron las alteraciones en el sistema inmune innato y adaptativo en 40 pacientes con sepsis severa en un estudio post mortem (en los primeros 30 a 180 minutos) de tejido esplénico y pulmonar, en donde se evidenció una reducción de aproximadamente 10% en la síntesis de TNF- α , IFN γ , IL-6 por parte de los esplenocitos de pacientes con sepsis en comparación con controles, esto independientemente de la edad, duración de sepsis, estado nutricional y uso de esteroides.¹⁵

En este mismo estudio encontraron además que el incremento en la expresión de receptores y ligandos inhibitorios como PD1/PD-L1, la expansión de células supresoras o reguladoras en ambos tejidos, así como la depleción de CD4+ y CD8+ en el tejido esplénico de pacientes con sepsis, demostraron que no sólo se presentan alteraciones en el funcionamiento del sistema inmune innato para

liberar citocinas sino también en el sistema inmune adaptativo, compatibles con un estado de inmunosupresión subyacente en los pacientes con sepsis.¹⁵

Se ha relacionado este estado de “inmunosupresión”, con disminución en la capacidad del sistema inmune para combatir procesos infecciosos persistentes o nuevos procesos infecciosos.¹⁰ En un estudio retrospectivo, se demostró un incremento en el aislamiento de microorganismos mediante la realización de hemocultivos en pacientes con sepsis a partir del día de iniciado el proceso infeccioso, con un pico después del día 15 y de manera llamativa, incremento en la frecuencia de aislamiento de agentes infecciosos típicos de infecciones oportunistas desde un 7.7% en los primeros días de la enfermedad, hasta un 14.3% después del día 15, así como un incremento significativo en el porcentaje de aislamientos de *Candida spp* de un 7.7% a un 35.7% en la última fase de la evolución de la enfermedad, sugiriendo que estos mecanismos de regulación del sistema inmune hacia la baja, correlacionan de manera directa con el incremento en la presencia de infecciones oportunistas y alteraciones en la resolución de infecciones persistentes.⁹ Al igual que para infecciones micóticas y para infecciones bacterianas por gérmenes oportunistas; se ha evidenciado un incremento en la incidencia de infecciones por agentes virales y reactivación de infecciones virales previas de hasta un 42.7%, principalmente aquellas causadas por citomegalovirus (CMV) virus Epstein-Barr (EBV), virus herpes simple (HSV), herpes virus humano 6 (HHV-6), entre otros, en relación a altas cargas virales e incremento en la mortalidad en los pacientes con viremias detectables.¹⁶

En un estudio de seguimiento prospectivo, transversal de 8 pacientes que sobrevivieron a un cuadro de sepsis, se observó que este estado de inmunosupresión puede durar inclusive meses a años posterior a la resolución del cuadro, reportándose tasas de mortalidad de hasta el 43% después de un año, 44.9% después de dos años y de 74.2% 5 años posteriores al egreso hospitalario.¹⁷

Inmunosupresión en SIRS/sepsis

En modelos de sepsis en animales, tal como es el modelo de ligadura y punción cecal (CLP por sus siglas en inglés) en ratones, se ha caracterizado la respuesta inmune durante el desarrollo de la enfermedad.²¹ En 2010, Muenzer y colaboradores, desarrollaron un modelo de sepsis en el cual además de aplicar el modelo clásico de CLP, se aplicó un segundo insulto, mediante la inducción de neumonía por *P. aeruginosa* para valorar la respuesta inflamatoria, en el cual evidenciaron una fase hiper-inflamatoria inicial que se transformó en una respuesta hipo-inflamatoria predominando un estado de “inmunoparálisis” con duración promedio de 4 días, seguido de un proceso de reconstitución inmune al séptimo día posterior a la CLP, que coincidió con el hecho de que los ratones inoculados con *P. aeruginosa* al cuarto día posterior a la CLP, tuvieron menor sobrevida comparados con aquellos que fueron inoculados al séptimo día. Al mismo tiempo, se realizaron estudios de sobrevida, mediante la administración de terapia con AS101 -un inmunomodulador que disminuye la secreción de IL-10, incrementa la secreción de IL-1 α , IL12p40 y la habilidad de producción de IFN γ por los esplenocitos; aumentó la sobrevida (89% vs 54% $P < 0.017$) de los ratones y además disminuyó la tasa de crecimiento de *P. aeruginosa* en cultivos de sangre y lavado bronquioalveolar en los ratones tratados con este potente inhibidor de la IL-10 a las 16 horas del segundo inóculo (1.1 vs 2.9 log₁₀ UFC y 0.03 vs 1.6 log₁₀ UFC respectivamente; $P < 0.03$).²²

De manera general, ha sido propuesta la teoría de que la fase de “inmunosupresión” asociada a sepsis, es caracterizada por un incremento significativo en la producción de citocinas anti-inflamatorias, dentro de las que predominan la IL-4, IL-13, IL-35, IL-37, TGF- β e IL-10. Dentro de estas, se ha destacado el papel de IL-10 como uno de los principales mediadores solubles que caracteriza a la fase anti-inflamatoria o regulatoria en los procesos de inflamación sistémica, esto último importante para el control de una fase pro-inflamatoria excesiva y un menor daño orgánico a nivel sistémico.^{13, 23}

Esta citocina dimérica, secretada por distintos tipos celulares, tales como monocitos, macrófagos, linfocitos T y B y células NK, actúa en diferentes

células, inhibiendo la producción de citocinas principalmente pro-inflamatorias como $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, $IL-1-\beta$, expresión de moléculas co-estimuladoras como CD-80 y CD-86, así como el procesamiento y presentación de antígeno, además de la disminución en la expresión de HLA-DR, mediante la disminución en la expresión de ICAM-1, así como por la inhibición de la formación de óxido nítrico, síntesis de prostaglandinas y disminución de la actividad de metaloproteinasas, efectos que han sido demostrados tanto *in vitro* como *in vivo*.²³ Sin embargo, además del papel regulador del proceso inflamatorio previamente descrito, pareciera ser la responsable directa de la aparición de infecciones secundarias ocasionadas principalmente por agentes nosocomiales u oportunistas las cuales son recurrentes en los pacientes con inflamación sistémica; ya que se relaciona la presencia de altas concentraciones de estos mediadores anti-inflamatorios a un estado de “inmunosupresión” de estos pacientes, ocasionando un aumento en las tasas de morbi-mortalidad a mediano y largo plazo.^{23, 24}

Los mecanismos moleculares mediante los cuales IL-10 modula la respuesta anti-inflamatoria o la inducción de inmunosupresión, con la persistencia de una respuesta inflamatoria “atenuada” no ha sido comprendida de manera completa.^{5, 11}

Hasta el momento se conoce que las acciones desencadenadas por la IL-10 son mediadas por el receptor de IL10 (IL-10R), el cual es una proteína heterodimérica, compuesta por las cadenas IL-10R1 e IL-10R2, asociadas a las tirosin cinasas JAK1 y TYK2, respectivamente, que activan la vía JAK-STAT utilizando el factor de transcripción STAT3.¹³ El receptor IL10-R1 se expresa de manera constitutiva por la mayor parte de las células de estirpe inmune, predominantemente en monocitos y macrófagos aunque no se expresa constitutivamente en neutrófilos circulantes de sujetos sanos, *in-vitro* la estimulación de neutrófilos con LPS durante 3 a 4 horas induce la expresión de IL-10R1. En neutrófilos de sangre periférica de pacientes sépticos con respecto a los sujetos sanos aumenta la expresión de IL-10R1 y no así la expresión del receptor IL-10R2.²⁰

El receptor IL10-R2 es expresado de manera constitutiva en la mayor parte de las células;^{13, 18} sin embargo, a diferencia del receptor de IL10-R1, cuenta con una menor afinidad para unirse a la IL-10; su principal función parece ser el reclutamiento de la cinasa JAK Tyk2 al complejo de señalización formado con la IL-10. El receptor IL10-R1 tiene mayor afinidad a la IL-10, dicha unión recluta a la cinasa Jak 1 para inducir la consiguiente fosforilación y activación de los factores de transcripción de la familia STAT¹².

Por las evidencias in vitro y en modelos animales, se ha propuesto que, tanto la concentración de IL-10 como la expresión diferencial de sus receptores, pueden asociarse a la severidad y pronóstico de este padecimiento^{19, 13, 23}. Sin embargo, al momento no existe un estudio que registre la evolución de pacientes con SIRS/sepsis con los niveles de IL-10 circulantes y la expresión de IL-10R.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las publicaciones que existen hasta el momento no ofrecen información sobre la asociación que existe entre los niveles de citocinas en circulación con la expresión de sus receptores en diferentes poblaciones de leucocitos de sangre periférica en procesos de inflamación sistémica de un mismo paciente y en el tiempo en el que se toma la muestra. Una de las citocinas que ha sido ampliamente estudiada en inflamación sistémica es IL-10, ya que está relacionada o caracteriza a estos procesos en fases de anti-inflamación o CARS (Síndrome de Respuesta Anti-inflamatoria Compensatoria) o inclusive se ha propuesto que puede causar “parálisis inmunológica” y la cual se ha planteado como un blanco terapéutico para estos pacientes, sin embargo desarrollar trabajos de investigación que ayuden a comprender la asociación e interacción que existe entre los niveles de citocinas, sus receptores y a su vez evaluar si tienen un valor pronóstico en un mismo paciente, puede derivar en modificaciones en el manejo de los tratamientos actuales que se les aplica a los pacientes con SIRS o sepsis, los cuales puedan resultar más eficientes y disminuyan las complicaciones.

JUSTIFICACIÓN

Se ha descrito que la activación de leucocitos (evidenciada por la sobre expresión de moléculas como CD16, CD69, CCR7, TREM-1), como también el incremento en las concentraciones de moléculas relacionadas con activación de complemento (C5a, C3a, y C4a), con activación endotelial (sVCAM-1) y de citocinas tanto pro como anti-inflamatorias (IL-6,IL-8,TNF-a, IL-10, IL-1RA, etc) se asocia con la gravedad de la sepsis. De allí que algunas de estas moléculas se hayan propuesto como biomarcadores o blancos terapéuticos.

Es clara la relación entre citocinas proinflamatorias con la expresión de MyD88 y marcadores de activación de leucocitos. Y también es clara la relación que existe entre la severidad de la sepsis y el desarrollo de complicaciones como infecciones sobreagregadas, que incrementan las tasas mortalidad en estos pacientes. Si bien se ha comprobado que el incremento de IL-10 se relaciona con disminución en las capacidades de protección de leucocitos, y que la respuesta depende de la expresión de IL-10, al momento se ignora si los niveles elevados que se han reportado de IL-10 e IL10R en pacientes con sepsis realmente tiene impacto en la evolución de este severo proceso de inflamación sistémica.

HIPÓTESIS

Mayor concentración sérica de IL-10 y mayor expresión de su receptor en leucocitos circulantes de pacientes diagnosticados con SIRS/sepsis se asociará directamente con la severidad y/o peor pronóstico.

OBJETIVO GENERAL

Establecer la relación entre las concentraciones séricas de IL-10 y la expresión de su receptor en leucocitos circulantes con la severidad y pronóstico en pacientes adultos diagnosticados con SIRS /sepsis.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Cuantificar los niveles de IL-10 en el suero de pacientes con SIRS/sepsis.
- Determinar la expresión del receptor de IL-10R, en leucocitos de sangre periférica de pacientes con SIRS/sepsis.
- Establecer los valores de APACHE y SOFA para establecer la escala de severidad y pronóstico de los pacientes al momento de la toma de la muestra.
- Establecer la asociación entre las variaciones de la concentración sérica de IL10, la expresión de su receptor en leucocitos circulantes con la severidad y pronóstico en el corto y mediano plazo en pacientes adultos con SIRS/sepsis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio longitudinal, descriptivo, observacional y analítico.

Universo de trabajo

Se incluyeron pacientes adultos ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) con diagnóstico de SIRS o sepsis de reciente inicio.

Por lo que se obtuvieron dos grupos:

Grupo de pacientes con SIRS, los cuales cumplieron con 2 o más de los siguientes signos: Temperatura $> 38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$, Frecuencia Cardíaca $> 90/\text{min}$, Frecuencia Respiratoria $> 20/\text{min}$, Leucocitos $> 12\ 000/\text{mm}^3$ o $< 4\ 000/\text{mm}^3$.

Grupo de pacientes con Sepsis, los cuales presentaron evidencia de un foco infeccioso y la cual se define actualmente como disfunción orgánica causada por una respuesta ante la infección desregulada y presentan un valor de SOFA ≥ 2 .

Cálculo muestral:

Se tomó en cuenta que a la Unidad de Cuidados Intensivos ingresan 257 pacientes diagnosticados con SIRS o Sepsis y que de estos el 80% presentan comorbilidades que se mencionan en los criterios de no inclusión, se calculó obtener aproximadamente en total 25 pacientes con este diagnóstico que cumplieran con los criterios de inclusión.

Variables del estudio

Variable independiente

Evolución de la Sepsis o SIRS

Variables dependientes

Expresión del receptor de IL-10 en células mieloides, liberación de citocinas (IL-10).

Definición de las variables

Sepsis: Variable independiente que se define como Síndrome clínico caracterizado por la presencia de inflamación sistémica (SIRS), falla de al menos un órgano e infección. Actualmente se define como la presencia de un foco infeccioso y disfunción orgánica causada por una respuesta inmune desregulada y presentan un valor de SOFA ≥ 2 .

SIRS: Variable independiente que se define como Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica caracterizado por la presencia de al menos dos de los siguientes criterios: fiebre o hipotermia, taquicardia, taquipnea o hipocarbia y leucocitosis o leucopenia.

Inmunofenotipo: Variable dependiente cualitativa nominal que se define como el conjunto de moléculas de superficie o intracelulares que identifican y caracterizan células para establecer el estado de activación y/o maduración celular.

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

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

IL-10: Variable dependiente cuantitativa, que se define como citocina con efecto anti-inflamatorio que es secretada por diferentes tipos celulares tales como las células T CD4+, T CD8+, monocitos/macrófagos entre otras células. Modula la expresión de citocinas pro-inflamatorias. Se puede determinar en líquidos corporales como suero o plasma. Se determinan sus concentraciones en pg/mL por métodos inmunológicos como ELISA o multiarreglos de perlas.

IL-10R: Variable dependiente cualitativa (Intensidad Media de Fluorescencia , IMF) conocida también por CD210, es una proteína heterodimérica con un peso molecular que va desde los 90 hasta los 110 kD, expresado en linfocitos T y B, células NK, monocitos y macrófagos. Al unirse a su ligando en este caso IL-10, induce la activación de la vía de señalización JAK-STAT, con la fosforilación de Jak-1 y Tyk, resultando en la activación de los factores de transcripción STAT-1 y STAT-3, lo que da como resultado la inhibición de la producción de citocinas principalmente pro-inflamatorias y la disminución en la expresión de moléculas co-estimuladoras que favorecen la proliferación y diferenciación de linfocitos B.

APACHE II : Variable independiente cualitativa, APACHE II es el acrónimo en inglés de «Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II», es un sistema de clasificación de severidad o gravedad de enfermedades (Knaus et al., 1985), uno de varios sistemas de puntuación (scoring) usado en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI). Este es aplicado dentro de las 24 horas de admisión del paciente a una UCI: un valor entero de **0** a **71** es calculado basado en varias medidas; A mayores scores o puntuación, le corresponden enfermedades más severas y un mayor riesgo de muerte.

SOFA: Variable independiente cualitativa , SOFA es el acrónimo en inglés de «Sequential Organ Failure Assessment» se creó en una reunión de consenso de la European Society of Intensive Care Medicine en 1994 y nuevamente

revisado en 1996. El SOFA es un sistema de medición diaria de fallo orgánico múltiple de seis disfunciones orgánicas. Cada órgano se clasifica de 0 (normal) a 4 (el más anormal), proporcionando una puntuación diaria de 0 a 24 puntos. El objetivo en el desarrollo del SOFA era crear un score simple, confiable y continuo, y fácilmente obtenido en cada institución. Durante los primeros días de ingreso en la UCI es un buen indicador de pronóstico. Tanto la media, como el score más alto son predictores particularmente útiles de resultados. Independiente de la puntuación inicial, un aumento en la puntuación SOFA durante las primeras 48 horas en la UCI predice una tasa de mortalidad de al menos el 50%.

SELECCIÓN DE LA MUESTRA.

Tamaño de la Muestra

Técnica de muestreo: No probabilístico. Tipo de población: infinita sin reemplazo. Dado que se trata de un estudio piloto experimental, se tomaron de 10 sujetos por grupo (20 en total) sujetos para el presente estudio. Se incluyeron pacientes con diagnóstico SIRS/sepsis manejados en el servicio de medicina interna y la UCI del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Criterios de inclusión

- Pacientes ingresados en la UCI con SIRS o sepsis, con menos de 48 horas de evolución de acuerdo a los criterios de la ACCP⁷ y/o dentro de las primeras 24 horas de haber sido ingresados a la UCI.
- Pacientes de sexo masculino y de sexo femenino .
- Pacientes entre 18 y 60 años de edad.
- Pacientes que otorguen su consentimiento informado firmado. En caso de incapacidad para firmar la hoja el consentimiento, se solicitará el consentimiento a los familiares o al representante legal.
- Pacientes con reporte de hemocultivo.

Criterios de no inclusión

- Pacientes o sus familiares que rechazaron participar en el estudio.
- Pacientes con inmunodeficiencias como los portadores de HIV, hepatitis B o C, o enfermedades autoinmunes (lupus o artritis reumatoide), enfermedades tiroideas y oncológicas.
- Pacientes con reacciones alérgicas de menos de 3 meses de evolución secundarios a alérgenos, transfusiones o medicamentos.
- Pacientes que recibieron terapia de sostén (por más de tres días) con inmunosupresores o inmunomoduladores
- Embarazo.
- Pacientes con comorbilidades como diabetes, hipertensión arterial, falla renal o falla hepática.
- Pacientes que, previo a su ingreso a la UCI, habían sido sometidos a procedimiento quirúrgico a fin de eliminar focos infecciosos (abscesos, peritonitis, apendicitis, perforación intestinal).

Criterios de exclusión

- Pacientes con expediente clínico incompleto.

Criterios de eliminación

- Pacientes cuyas muestras sanguíneas no fueron factibles de procesar por situaciones inherentes a la toma y/o procesamiento de la misma.
- Pacientes que se retiren del estudio.

ASPECTOS ÉTICOS

Se considera que los sujetos incluidos en este estudio tienen un riesgo mayor al mínimo, por lo que se solicitará la firma de una carta de consentimiento informado antes de la toma de muestra y recolección de datos clínicos (Anexo 1, carta de consentimiento informado).

Los procedimientos realizados están de acuerdo con las normas éticas, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la

Salud y con la declaración de Helsinki de 1975 y sus enmiendas, así como los códigos y normas internacionales vigentes para las buenas prácticas en la investigación clínica. Además de lo anterior, se respetaron cabalmente los principios contenidos en el Código de Nuremberg [ENREF 112](#)⁸, la Declaración de Helsinki^{9,10} y sus enmiendas, el Informe Belmont¹¹.

Contribuciones y Beneficios: Directamente no existe beneficio para el paciente, aunque los conocimientos generados si contribuyen al mejor entendimiento de los procesos de inflamación sistémica: SIRS o sepsis, así como la interacción de los diferentes sistemas involucrados como la activación de leucocitos, endotelial y de cascadas de complemento.

Confidencialidad: Todos los pacientes ingresados al estudio fueron tratados con apego estricto de confidencialidad, quedando prohibida la divulgación de sus datos personales y médicos. Las hojas de recolección de datos (Anexo 2) se mantienen en resguardo en el la UIMIQ del Hospital de Especialidades y únicamente fueron utilizadas por los investigadores con los propósitos de esta investigación. Los datos obtenidos para la investigación fueron anotados únicamente en la hoja de recolección de datos; en el expediente clínico del paciente sólo se anotaron los datos clínicos relevantes para el seguimiento de los pacientes con SIRS o Sepsis. Los reportes de la investigación, como los artículos publicados o presentaciones en congresos y foros académicos, no cuentan con ningún dato personal de los participantes.

Selección de Participantes: Antes de invitar a cada paciente a participar en el proyecto, se le explicó ampliamente su patología (en caso de estar consiente o si no, a un familiar) y las estrategias terapéuticas que le corresponden al momento, así como la posibilidad de participación en la investigación y los riesgos y potenciales beneficios que pudieran derivar de ello. Si el paciente o familiar decidió no ser seleccionado para el protocolo, se continuó su tratamiento tal y como está indicado de acuerdo al servicio, acordes a la norma oficial mexicana vigente y la normativa del IMSS. Sólo fueron seleccionados para este estudio los derechohabientes activos del Instituto Mexicano del

Seguro Social. Se seleccionaron a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y que exentaron los criterios de exclusión o eliminación.

Recolección de las muestras

La toma de las muestras se realizó del catéter central con previa asepsia de la zona y drenado del mismo. Se colectaron al menos 3 mL de sangre periférica en tubos con heparina de litio como anticoagulante, para realizar la inmunofenotipificación de leucocitos (identificación de leucocitos y expresión de IL-10R o CD210). Además se colectaron 3 mL en tubos sin anticoagulante para realizar la determinación de los analitos solubles.

Recolección de datos clínicos

Utilizando una hoja de recolección de datos (Anexo 2, Hoja de recolección de datos), se recabó la información de identificación de cada paciente, así como el diagnóstico, evolución, variables clínicas y de laboratorio que se relacionan con la gravedad de la enfermedad y la evolución de los pacientes. Toda esta información se manejó como información confidencial, salvaguardando la privacidad de cada persona participante en el estudio.

Inmunofenotipificación de leucocitos de sangre periférica utilizando citometría de flujo

A 150 μ L de sangre total, se le adicionaron 100 μ L de solución de lisis 10X de eritrocitos (cloruro de amonio al 0.15M,) y se incubó 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente se adicionó 1 mL de solución amortiguadora a base de fosfatos (PBS 1x) y se centrifugó durante 5 min a 1500 rpm. El botón celular obtenido se resuspendió en 150 μ L de PBS 1x. Se agregaron 50 μ L de ésta última suspensión celular a un tubo de auto-fluorescencia (sin anticuerpos, AF) y tubos de "tinción" con una mezcla de anticuerpos monoclonales.

Tabla 2. Anticuerpos utilizados para evaluar los marcadores de identificación y caracterización de leucocitos circulantes.

Mezcla de anticuerpos					
Anticuerpo	Fluorocromo	Marca	Volumen (μL)	Catálogo	Clona
CD45	P. Orange	Invitrogen	0.5	MHCD4530	HI30
CD14	PE Cy7	BD	0.5	557742	MSE2
CD16	APC Cy7	BD	1.0	557758	3G8
CD210(IL-10R)	PE	Biolegend	2.5	308803	3F9

Pasados 15 min de incubación a temperatura ambiente y en oscuridad, se agregaron 250 μ L de una dilución 1:10 de solución de lisis y fijado (BD FACS™ Lysing Solution Cat. 349202) y se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. Finalmente, las células se lavaron por centrifugación agregando 1 ml de PBS y posteriormente se resuspendieron en 50 μ L de solución isotónica. Se adquirieron al menos dos mil eventos correspondientes a la población de células NK y/o cinco mil monocitos utilizando un citómetro FACS ARIA (BD™ Biosciences, San José, CA, USA) equipado con tres láser y el juego de filtros adecuados para la detección de los fluorocromos planteados en el panel. Los inmunofenotipos se analizaron utilizando el programa de análisis citométrico Infinicyt (Cytognos y EuroFlow™, Universidad de Salamanca, Salamanca, España).

A partir de los marcadores celulares, identificados mediante la mezcla de anticuerpos utilizada, y sus características de tamaño y complejidad relativos, se clasificaron a los leucocitos en: linfocitos T (FSC^{low}, SSC^{low}, CD45⁺, CD3⁺ CD14⁻, CD16⁻), monocitos (FSC^{med}, SSC^{med}, CD45⁺, CD3⁻, CD14⁺) y neutrófilos (FSC^{hi}, SSC^{hi}, CD45⁺, CD3⁻, CD14⁻, CD16⁺). Estos leucocitos se caracterizaron por la expresión diferencial del receptor de IL-10 o CD210 o IL-6R.

Cuantificación de citocinas solubles en suero

Las concentraciones de citocinas se obtuvieron por inmunoensayo basados en arreglos citométricos en perlas (CBAs). El kit utilizado permitió la obtención de la concentración de IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IL-1 β (límites de detección: 2.4 pg/mL IL-6, 4.5 pg/mL IL-10, 3.8 pg/mL TNF- α y 0.2 pg/mL IL-8). Del kit se utilizaron 5 μ L de cada solución de perlas, las cuales están recubiertas con anticuerpos dirigidos contra cada una de las proteínas a analizar, realizándose mezclas específicas y de volúmenes finales de acuerdo al número de muestras a analizarse. Se colocó un volumen de cada mezcla de perlas en cada tubo de citometría, rotulado con la clave de la muestra correspondiente.

Dentro de las muestras a analizarse se incluyeron diez puntos de una curva estándar, (estándar de proteínas, ocho diluciones del estándar y un blanco), preparada de acuerdo a especificaciones del fabricante a partir de proteína liofilizada, específica de cada kit. Se agregaron 50 μ L de muestra (suero, dilución o blanco) a su tubo rotulado correspondiente y se incubaron a temperatura ambiente durante una hora, protegidos de la luz. Posteriormente, se añadió un volumen de reactivo de detección, específico de cada kit, por muestra, siendo estos reactivos anticuerpos monoclonales dirigidos contra las proteínas a cuantificarse, acoplados al fluorocromo ficoeritrina (PE). Las muestras se analizaron utilizando un citómetro de flujo FACS Aria IIu (BD™ Biosciences, San Jose, CA, USA), ubicado en el centro de instrumentos-Citometría de Flujo de la Coordinación de Investigación en Salud. Se realizó el acondicionamiento del instrumento con los controles de compensación de los kits. A los datos obtenidos se les aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis, utilizando el programa GraphPad Prism versión 5.0 para Windows (GraphPad Software Inc).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez determinado el receptor de IL-10 tanto en neutrófilos como monocitos se aplicó la prueba de U de Mann-Whitney para establecer si existen diferencias en la expresión de marcadores entre los grupos de pacientes con sepsis y SIRS, además se utilizaron pruebas de análisis de correlación bivariada tipo Spearman para establecer si existen asociaciones entre la expresión del receptor de IL-10 y las concentraciones de las diferentes citocinas cuantificadas, con las escalas de severidad y pronóstico; APACHE y SOFA. Además, se calculó el coeficiente de determinación o r^2 para cada una de las asociaciones; este coeficiente nos indica la calidad del modelo para replicar los resultados y la proporción de variación de los resultados que puede explicarse por el modelo y no por el azar; puede tener un valor entre 0 y 1.

Se realizó análisis estadístico en programa GraphPad Prisma Versión 6. Para efectos del análisis a desarrollar, se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Se incluyeron 46 pacientes, distribuidos en 35 pacientes con diagnóstico de sepsis y 11 que se catalogaron como SIRS resultar con hemocultivo negativo y carecer de otras evidencias de infección. También se incluyeron 3 voluntarios sanos para fines comparativos con valores normales.

En la **Tabla 3** se muestran las características demográficas y clínicas de los pacientes, hasta ahora incluidos.

Tabla 3. Características demográficas y clínicas de los pacientes

VARIABLE	TOTAL(n=46)	SEPSIS (n=35)	SIRS (n=11)
Edad	43.1 ± 15.9	41.3 ± 14.8	47.4 ± 18.5
Género (Mujeres:Hombres)	25:21	19:16	6:5
FC (latidos /min)	91.1 ± 20.7	89.9 ± 24.3	96.1 ± 12.2
FR(respiraciones/min)	20.8 ± 4.7	20 ± 5.3	21.8 ± 3.8
Temperatura (°C)	37.2 ± 0.9	37.1 ± 0.9	37.0 ± 0.7
Leucocitos circulantes (x10⁵/dL)	16.5 ± 7.6	15.4 ± 5.7	19.4 ± 12.4
APACHE	8	9	7
SOFA	4	4	3

Como corresponde a los pacientes con inflamación sistémica aguda y severa, los signos como FC, FR y la cantidad de leucocitos en circulación están elevados respecto al valor de referencia. Lo que se relaciona directamente con los valores de APACHE y SOFA.

En la **Tabla 4** se muestran las proporciones de las poblaciones celulares en los pacientes; no se encontraron diferencias significativas entre pacientes con SIRS o sepsis, pero se encontró que, basados en los valores normales de referencia, hay linfopenia y neutrofilia en ambos grupos de pacientes.

Tabla 4. Linfopenia y neutrofilia en pacientes con SIRS/Sepsis.

	Sepsis (n = 35)	SIRS (n = 11)	Valores de referencia
Linfocitos (%)	11.0 ± 7.0	9.2 ± 4.5	14 – 47
Monocitos (%)	6.1 ± 1.9	7.9 ± 1.5	2 - 12
Neutrófilos (%)	82.6 ± 7.9	82.9 ± 6.0	35 - 80

IL-10 e IL-10R en pacientes con SIRS/Sepsis

Se realizó la determinación en suero de citocinas IL-10 en el suero los pacientes diagnosticados con SIRS o Sepsis y en voluntarios sanos. Al comparar entre los pacientes con SIRS y sepsis, se encontró un aumento significativo en la concentración de IL-10 (**Figura 2**) en el suero de los pacientes con SIRS y Sepsis en comparación con los voluntarios sanos.

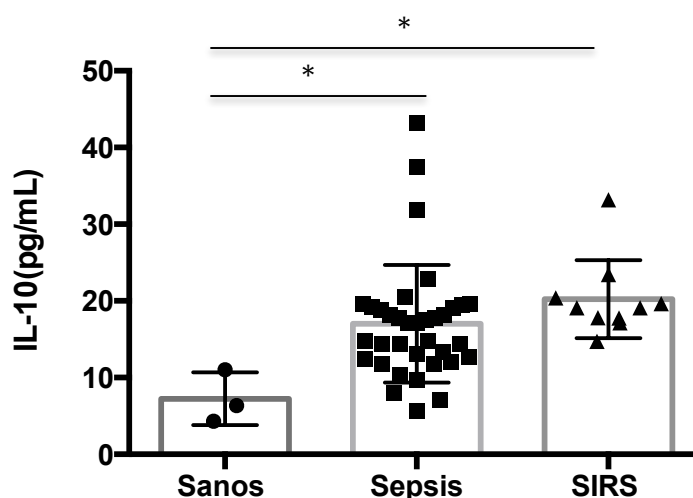


Figura 2. Los pacientes con SIRS y Sepsis presentan una mayor concentración de IL-10 circulante con respecto a los voluntarios sanos. Concentración sérica expresada en pg/mL de IL-10. Resultados de voluntarios sanos (n=3) y de pacientes con SIRS (n=11) y con sepsis

(n=35) ; cada punto representa a un paciente y se muestra el valor promedio junto con el error estándar. Kruskal Wallis; *p<0.05.

Hasta este momento se determinó la expresión de IL-10R en las células mieloides circulantes, o sea, en neutrófilos (células grandes y granulares CD45^{lo}CD16⁺CD14⁻) y monocitos (células medianas en tamaño y granularidad CD45^{med}CD4⁺CD16⁻) de 9 de estos pacientes diagnosticados con inflamación sistémica (sepsis n=7 y SIRS n=2). Como se puede observar en la **Figura 3**, en pacientes con SIRS es menor la proporción de neutrófilos que expresan al receptor de IL-10.

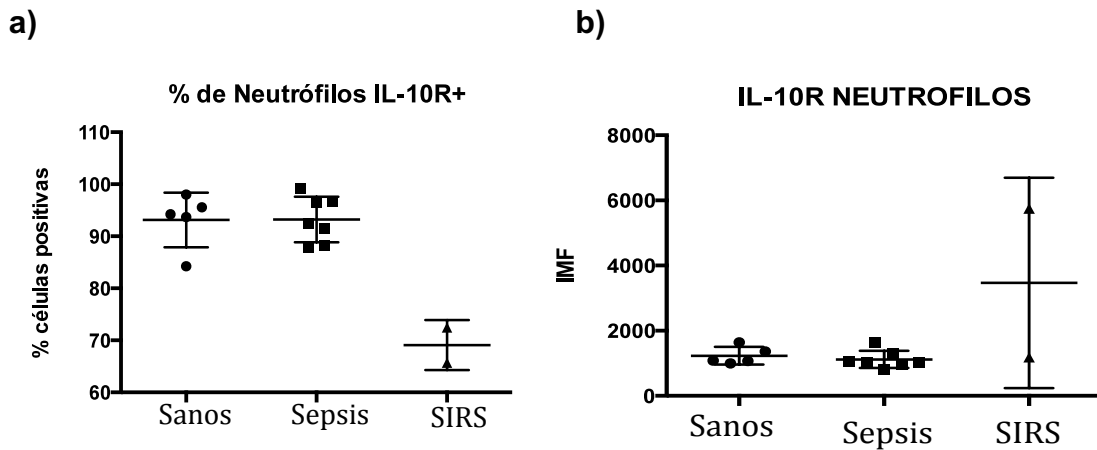


Figura 3. En neutrófilos de pacientes con SIRS disminuye IL10R.

Mediante citometría de flujo multiparamétrica se identificaron en sangre periférica a los neutrófilos (CD45^{lo}CD16⁺CD14⁻). Se evaluó: a) la proporción (%) de células que expresan IL-10R, así como b) la expresión relativa de IL-10R en los neutrófilos IL-10R⁺ mediante la determinación de la Media de Intensidad de Fluorescencia (MIF) en neutrófilos circulantes de pacientes con sepsis (n=7), SIRS (n=2) y en pacientes sanos (n=3). Cada punto representa a un paciente y se muestra el valor promedio junto con el error estándar. Kruskal Wallis; *p<0.05.

Utilizando la misma estrategia se evaluó la expresión de IL-10R en monocitos de sangre periférica. Como se observa en la **Figura 4**, a diferencia de lo observado en neutrófilos, en los monocitos no se modifica ni la proporción de células ni la expresión relativa de IL-10R en monocitos de sujetos con SIRS o sepsis, ni entre ellos, ni comparado con sujetos sanos.

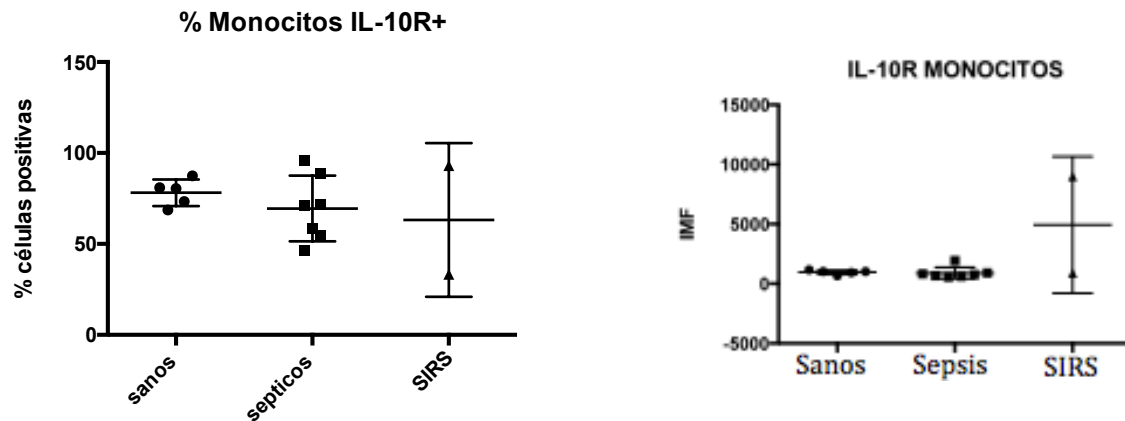


Figura 4. En monocitos de pacientes con SIRS/Sepsis se mantiene la expresión de IL-10R. Mediante citometría de flujo multiparamétrica se identificaron en sangre periférica a los monocitos ($CD45^{me}CD14^+CD16^-$). Se evaluó: **a)** la proporción (%) de células que expresan IL-10R, así como **b)** la expresión relativa de IL-10R en los monocitos IL-10R+ mediante la determinación de la Media de Intensidad de Fluorescencia (MIF) en monocitos circulantes de pacientes con sepsis (n=7), SIRS (n=1) y en pacientes sanos (n=3). Cada punto representa a un paciente y se muestra el valor promedio junto con el error estándar. Kruskal Wallis; *p<0.05

Asociación de IL-10 e IL10R con variables clínicas de pacientes SIRS/Sepsis

Una vez cuantificados los niveles en suero de IL-10 y determinada la expresión de IL-10R en células mieloides circulantes, y con la información contenida en la hoja de colección de datos, se procedió a realizar las pruebas de correlación bivariada. Para la gran mayoría de las variables, incluyendo temperatura corporal y cantidad de linfocitos no hubo ninguna correlación significativa ni en los datos obtenidos de sujetos con sepsis o SIRS respecto a IL-10 sérica e IL-10R ni en monocitos y ni en neutrófilos.

En cuanto a la frecuencia cardíaca, como se observa en la **Figura 5**, hay correlación positiva significativa entre los niveles séricos de IL-10 en los pacientes con SIRS($p=0.029$), pero no así en aquellos con sepsis($p=0.64$).

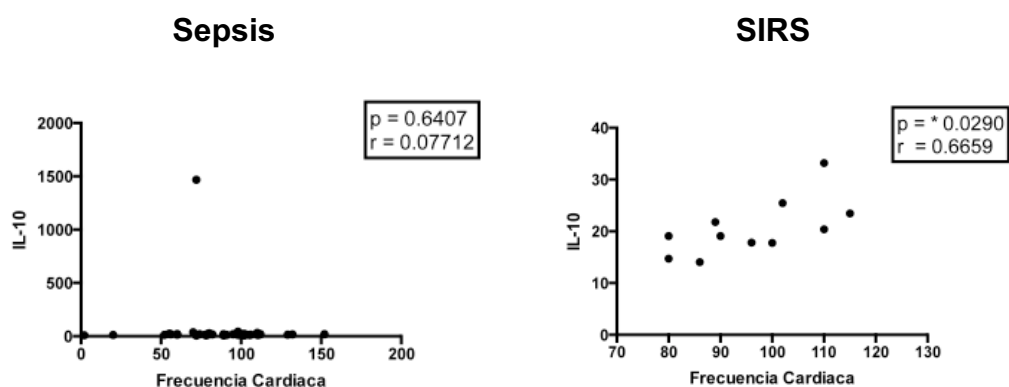


Figura 5. Los niveles séricos de IL-10 se correlaciona directamente con la frecuencia cardíaca en sujetos con SIRS. Con los valores séricos de IL-10 cuantificados por inmunoensayo y los valores de frecuencia cardíaca se aplicó la prueba de correlación bivariada Rho de Spearman (programa GraphPad Prisma versión 6). Cada punto representa un paciente.

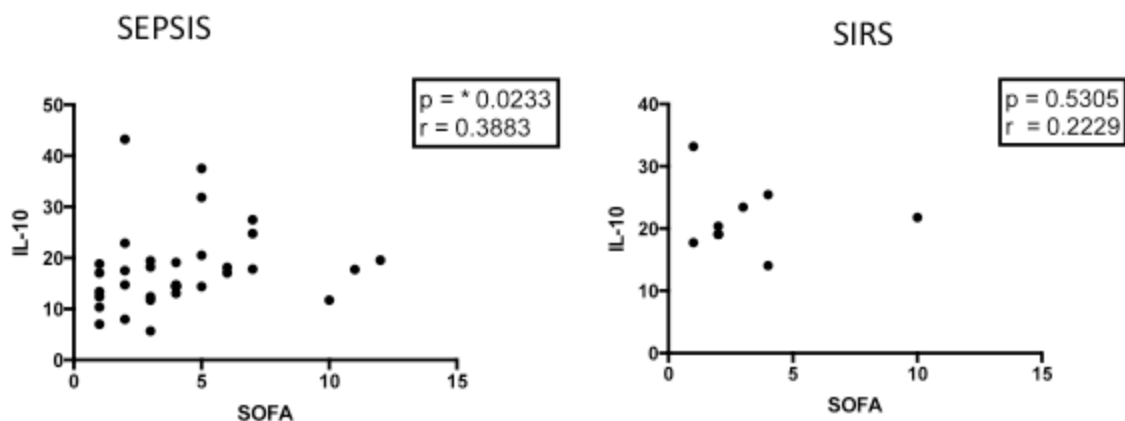


Figura 7. Los niveles séricos de IL-10 se asocian positivamente con la severidad. Con los valores séricos de IL-10 cuantificados por inmunoensayo y los valores de la escala APACHE de pacientes con sepsis (n=36) y SIRS (n=11) se aplicó la prueba de correlación bivariada Rho de Spearman (programa GraphPad Prisma versión 6). Cada punto representa un paciente.

Para la expresión del receptor a IL-10 en monocitos, se aplicó la prueba de asociación bivariada tomando a todos los pacientes para los que se tiene el valor de expresión del IL-10R al momento, que son 9 (7 con diagnóstico de sepsis y 2 con diagnóstico de SIRS). Como se observa en la **Figura 8**, no encontramos asociación entre la expresión de IL-10R y los signos de frecuencia cardíaca, respiratoria ni con las escalas de APACHE y SOFA.

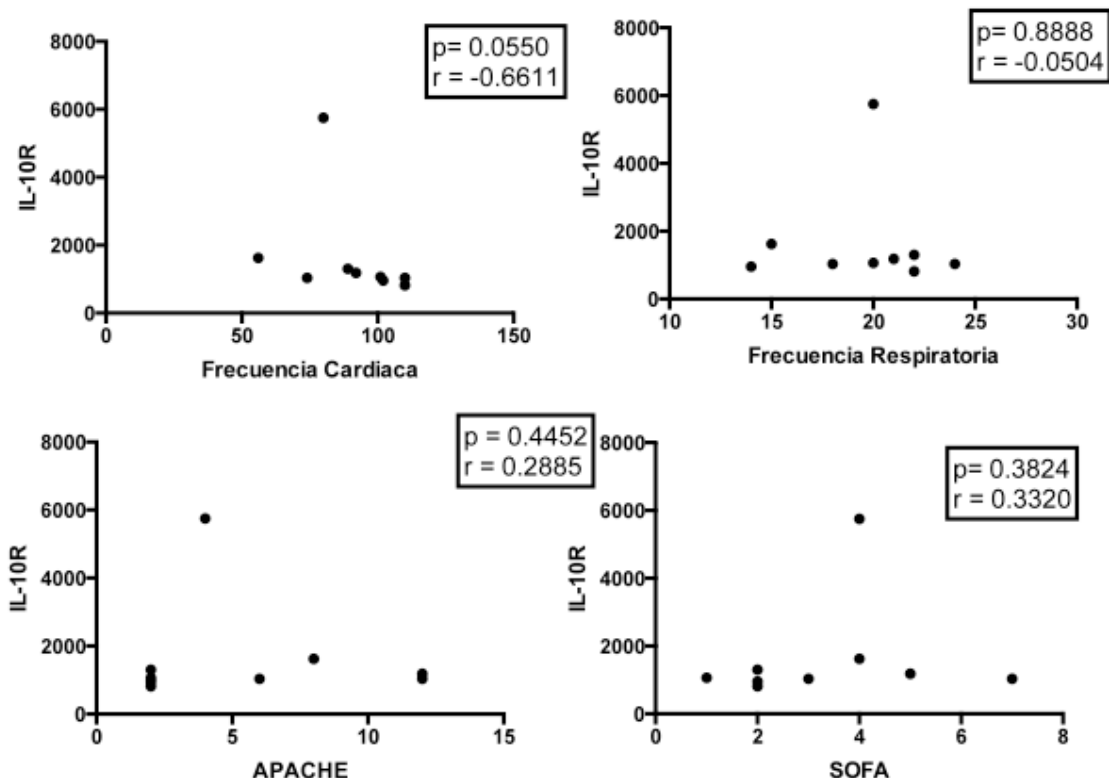


Figura 8. La expresión del receptor a IL-10 (IL-10R) en monocitos no se asocia con datos de severidad o pronóstico. Con los valores de IL-10R determinados en la superficie de células mieloides y los valores frecuencia cardíaca y respiratoria, y de las escalas APACHE y SOFA de pacientes con SIRS/sepsis (n=9; 2:7) se aplicó la prueba de correlación bivariada Rho de Spearman (programa GraphPad Prisma versión 6). Cada punto representa un paciente.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se realizó la determinación de niveles séricos de IL-10 y del receptor de IL-10R para evaluar su papel en la respuesta del hospedero a los procesos de SIRS/sepsis y determinar una posible asociación en el pronóstico de estos pacientes a corto y mediano plazo mediante la correlación de las concentraciones de IL-10 y la expresión de su receptor en células mieloides con variables clínicas y las escalas pronósticas más utilizadas en nuestro medio.

La IL-10 cuenta con funciones predominantemente anti-inflamatorias, siendo un mediador importante en el proceso inflamatorio, iniciándose su secreción desde las primeras horas de este, sin embargo, el incremento en su concentración en

suero, no parece asociarse con mayores datos de gravedad en el paciente con SIRS/sepsis, pero sí con la evolución a la falla orgánica múltiple y mortalidad a mediano y corto plazo, lo cual podría estar en relación a sus efectos antiinflamatorios y a la inmunoparálisis que se ha descrito previamente en otras bibliografías¹².

De acuerdo a la escala de APACHE, es claro que los pacientes con sepsis incluidos en este estudio presentan peor pronóstico que los pacientes con SIRS¹³. Esto se relaciona directamente con la mayor severidad y compromiso funcional que estos pacientes con sepsis tienen. Se evidenció que los pacientes con SIRS presentan una mayor variabilidad en las constantes vitales con respecto a los pacientes con diagnóstico de sepsis, lo que podría apoyar la nueva definición de sepsis en la que se hace menor hincapié en la presencia de datos de respuesta inflamatoria sistémica y se propone como criterio diagnóstico la presencia de datos de falla orgánica múltiple valorado mediante la escala de SOFA².

Los pacientes de este estudio presentan neutrofilia y linfopenia, lo cual coincide con lo previamente observamos en la UIMIQ de Hospital de Especialidades, que los pacientes con inflamación sistémica, tanto SIRS como sepsis^{14,15}.

Como en otros trabajos en los que se analiza a pacientes con el proceso de sepsis ya instalado, encontramos incrementos estadísticamente significativos en la concentración en suero de IL-10¹⁶ tanto en pacientes con SIRS como con sepsis comparados con sujetos sanos. Esto coincidiría en la fisiopatología con el desarrollo de un estado mixto de componentes anti y pro inflamatorios como el MARS⁷.

Se valoró la expresión del receptor de IL-10R en células mieloides y su expresión en los pacientes con sepsis/SIRS, dado que en modelos de endotoxemia en ratón se ha reportado que la expresión de IL-10R en neutrófilos y monocitos es clave para la contención de la respuesta inflamatoria sistémica¹⁷ se esperaría que ante una mayor concentración de IL-10 en los pacientes con sepsis SIRS, la expresión del receptor de IL-10R incrementaría en estos pacientes, sin embargo, se evidenció que no existe diferencia en la

expresión en neutrófilos de este receptor entre los pacientes con sepsis y los pacientes sanos, sin embargo, existe disminución de su expresión en los pacientes con SIRS.

Al comparar la expresión del receptor de IL-10R en monocitos circulantes, en los que la expresión se mantuvo constante tanto en los pacientes con SIRS/sepsis como en los pacientes sanos (tal como se observa entre neutrófilos de pacientes con sepsis y sujetos sanos), podría estar relacionado con mecanismos de protección, ya que se ha reportado que en condiciones de inflamación crónica como ante esquistosomiasis, no se modifica la expresión de IL-10R en monocitos¹⁸. Interesantemente, en modelos murinos de quemadura se ha observado que la eliminación de polimorfonucleares disminuye la sobrevivencia al inducir endotoxemia¹⁹, lo cual contrasta con nuestro hallazgo de menor expresión del receptor en neutrófilos de sujetos SIRS. Si esto tiene que ver con el desarrollo de complicaciones para el paciente queda por determinarse. Otra posibilidad es que la dinámica de activación del receptor varíe de acuerdo con el tiempo de evolución del proceso SIRS/Sepsis, para lo que habría que valorar la expresión del receptor de IL-10R en estas células de manera secuencial.

Para orientar el papel de la IL-10 y su receptor en la severidad y pronóstico en el proceso de SIRS/sepsis, se correlacionaron sus concentraciones en suero con las variables clínicas definitorias de SIRS, evidenciando únicamente una correlación directa de su concentración con la frecuencia cardiaca en los pacientes con SIRS, mas no así en los pacientes con diagnóstico de sepsis. De la misma manera se realizó correlación de la concentración de los niveles de IL-10 con las escalas de APACHE y SOFA para establecer asociaciones entre los niveles de la interleucina y el pronóstico en este grupo de pacientes, sin evidenciarse una asociación directa entre los niveles de IL-10 y la escala de APACHE, pero si para la escala de SOFA en los pacientes con SIRS/sepsis, siendo esta última escala una de las más validadas recientemente a nivel internacional para validez predictiva de mortalidad hospitalaria y predicción de falla orgánica múltiple, por lo que los niveles séricos de IL-10 bien pueden estar relacionados con el pronóstico de desarrollo de falla orgánica múltiple y

mortalidad a corto y mediano plazo en los pacientes con diagnóstico de SIRS/ sepsis en las primeras 24-48 horas de su ingreso a la unidad de cuidados intensivos.

En otros reportes, la elevación de IL-10 sérica se asocia con mal pronóstico en pacientes con sepsis²⁰. Saber si este es el caso en los pacientes incluidos en el estudio requeriría de datos adicionales a los colectados en el instrumento de recolección utilizado en el presente estudio. Sin embargo, a diferencia de lo reportado por Gogos y colaboradores²¹, al momento de la toma de la muestra no encontramos correlación con escalas SOFA y APACHE II. Esto podría deberse a que en caso de nuestros pacientes, los niveles de IL-10 que detectamos corresponden a la mitad de lo reportado por Gogos y col, lo que probablemente refleje indirectamente que en su caso los pacientes cursaban con un cuadro clínico más severo.

CONCLUSIÓN

A diferencia de los niveles de IL-10 circulante la expresión de su receptor en células mieloides no se relaciona directamente con el cuadro clínico de los pacientes con SIRS/sepsis.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Nduka, O. O. & Parrillo, J. E. The Pathophysiology of Septic Shock. *Critical Care Clinics* **25**, 677-702, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ccc.2009.08.002> (2009).
- 2 Singer, M. *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* **315**, 801-810, doi:10.1001/jama.2016.0287 (2016).
- 3 Akira, S., Uematsu, S. & Takeuchi, O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* **124**, 783-801, doi:10.1016/j.cell.2006.02.015 (2006).
- 4 Takeuchi, O. & Akira, S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* **140**, 805-820, doi:10.1016/j.cell.2010.01.022 (2010).
- 5 Palsson-McDermott, E. M. & O'Neill, L. A. Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4. *Immunology* **113**, 153-162, doi:10.1111/j.1365-2567.2004.01976.x (2004).
- 6 Janeway, C. A., Jr. & Medzhitov, R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology* **20**, 197-216, doi:10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359 (2002).
- 7 Nystrom, P. O. The systemic inflammatory response syndrome: definitions and aetiology. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* **41 Suppl A**, 1-7 (1998).
- 8 Greek, R., Pippus, A. & Hansen, L. A. The Nuremberg Code subverts human health and safety by requiring animal modeling. *BMC medical ethics* **13**, 16, doi:10.1186/1472-6939-13-16 (2012).
- 9 Wilson, C. B. An updated Declaration of Helsinki will provide more protection. *Nature medicine* **19**, 664, doi:10.1038/nm0613-664 (2013).
- 10 Shaw, D. & McMahon, A. Ethicovigilance in Clinical Trials. *Bioethics*, doi:10.1111/j.1467-8519.2012.01967.x (2012).
- 11 Vollmer, S. H. & Howard, G. Statistical power, the Belmont report, and the ethics of clinical trials. *Science and engineering ethics* **16**, 675-691, doi:10.1007/s11948-010-9244-0 (2010).
- 12 Arens, C. *et al.* Sepsis-induced long-term immune paralysis--results of a descriptive, explorative study. *Critical care* **20**, 93, doi:10.1186/s13054-016-1233-5 (2016).
- 13 Knaus, W. A., Draper, E. A., Wagner, D. P. & Zimmerman, J. E. APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical care medicine* **13**, 818-829 (1985).
- 14 Flores Mejía, L. A. *Caracterización inmunofenotípica de leucocitos circulantes en SIRS/sepsis* Maestría thesis, Instituto Politécnico Nacional (2013).
- 15 Chávez, J. L. P. *Evaluación de un panel biomarcador para la caracterización de pacientes con SIRS/sepsis* Maestría thesis, Instituto Politécnico Nacional (2015).
- 16 Laudanski, K. *et al.* The clinical and immunological performance of 28 days survival model of cecal ligation and puncture in humanized mice. *PloS one* **12**, e0180377, doi:10.1371/journal.pone.0180377 (2017).
- 17 Pils, M. C. *et al.* Monocytes/macrophages and/or neutrophils are the target of IL-10 in the LPS endotoxemia model. *European journal of immunology* **40**, 443-448, doi:10.1002/eji.200939592 (2010).

- 18 Fernandes, J. S. *et al.* Monocyte subsets in schistosomiasis patients with periportal fibrosis. *Mediators of inflammation* **2014**, 703653, doi:10.1155/2014/703653 (2014).
- 19 Noel, G. *et al.* Neutrophils, not monocyte/macrophages, are the major splenic source of postburn IL-10. *Shock* **36**, 149-155, doi:10.1097/SHK.0b013e3182205cbc (2011).
- 20 Ono, S. *et al.* Severe sepsis induces deficient interferon-gamma and interleukin-12 production, but interleukin-12 therapy improves survival in peritonitis. *American journal of surgery* **182**, 491-497 (2001).
- 21 Gogos, C. A., Drosou, E., Bassaris, H. P. & Skoutelis, A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *The Journal of infectious diseases* **181**, 176-180, doi:10.1086/315214 (2000).

ANEXO 1

Carta de consentimiento informado



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y
POLITICAS DE SALUD**

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
(ADULTOS)**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio: Asociación de los niveles séricos de IL-10 y la expresión de su receptor en leucocitos circulantes con la severidad y pronóstico de pacientes con SIRS/sepsis.

Lugar: Servicio de Medicina Interna y Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica del Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI, IMSS Ciudad de México D.F.

Fecha: _____

Número de registro: _____

Objetivo del estudio: El objetivo del estudio es conocer si en su sangre de Ud. o su paciente está una sustancia, llamada interleucina 10 (o IL-10, que suele aumentar en casos de enfermedad) y si sus niveles o los de su receptor (lo que sirve para que se responda a la sustenaci) tienen alguna relación con la gravedad de su enfermedad.

Procedimientos: Su participación en este estudio consiste en permitirnos tomarle una muestra de sangre de la vena de su brazo de una cantidad equivalente a dos cucharadas (10 mL) en tres diferentes tubos. El tiempo que ocuparemos para realizar la toma de muestra de sangre es de aproximadamente 10 minutos o menos. En el laboratorio, donde ya no se requiere de su presencia, a una parte de su sangre la ocuparemos para marcar sus glóbulos blancos y observar los cambios que nos hablen de su capacidad de activarse y por otra parte ocuparemos la parte de su sangre que se llama suero y plasma (en caso del tubo con anticoagulante), para realizar la cuantificación de moléculas solubles liberadas por la activación de sus células, que participan en inflamación como las citocinas. Además le pedimos nos permita recabar de su expediente información relacionada con la evolución de su enfermedad.

Posibles riesgos y molestias: La toma de muestra de sangre será del catéter central , o sea, por donde habitualmente se extraen las muestras de sangre de ud. o su paciente y se administran medicamentos. Se realizará esta toma por personas expertas, quienes seguirán todos los cuidados de limpieza adecuados.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:

El investigador responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mí, así como 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. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar mi parecer respecto a mi permanencia en el mismo. Así mismo es de mi conocimiento que no recibiré ningún estímulo económico por mi participación en esta investigación y que todo el material y recursos necesarios para el mismo correrán a cargo del investigador.

	<p>Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes y molestias. Así como de los beneficios derivados de mi participación en este estudio y que son los siguientes: Con el estudio de mi sangre los investigadores conocerán más en relación a mi enfermedad.</p> <hr/>
Participación o retiro:	<p>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 en el Instituto.</p> <hr/>
Privacidad y confidencialidad:	<p>El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones y/o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán tratados en forma confidencial.</p> <hr/>
Disponibilidad de tratamiento médico en derecho habientes (si aplica):	<p>El Instituto cuenta con el tratamiento que se requiere.</p> <hr/>
Beneficios al término del estudio:	<p>De forma inmediata este estudio no le beneficia directamente ni modificará su tratamiento de forma alguna. Sin embargo, la información que ontengamos de este estudio beneficiará en el futuro a pacientes ya que pensamos que contribuirán a clarificar al Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica y a Sepsis , así como por que en algunos casos pueden funcionar o no las terapias que se proponen actualmente.</p> <hr/>
<p>En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:</p>	
Investigador Responsable:	<p>Dra. Lourdes Andrea Arriaga Pizano. Investigadora de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.</p> <hr/>
Colaboradores:	<p>Dr. Geovani Amador García. Médico Residente 4to año. Servicio de Medicina Interna Dr. Marco Antonio León Gutiérrez , Jefe de la Unidad de Cuidados Intensivos Dr. Dr. Juan Carlos Anda, Jefe de Servicio, Servicio de Medicina Interna Dr. Armando Isibasi Araujo, Jefe de la unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica Dr. Eduardo Ferat Osorio, médico adscrito al Servicio de Gastrocirugía.</p> <hr/>
<p>En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx</p>	
<hr/>	
Nombre y firma del paciente.	Nombre, firma y matricula del investigador.
<hr/>	
Testigo 1	Testigo 2
<hr/>	
Nombre, dirección, relación y firma .	Nombre, dirección, relación y firma.

ANEXO 2

Hoja de recolección de datos

Hospital de Especialidades

Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica

Protocolo: Validación de un panel biomarcador para el diagnóstico y pronóstico de sepsis, basado en la inmunofenotipificación de leucocitos circulantes humanos

Ficha de identificación

Nombre	Filiación						No. De Paciente	
Fecha de hospitalización	Fecha de egreso de Hospitalización	Días de estancia intrahospitalaria	Ingreso a UCI	Fecha de ingreso a UCI	Fecha de egreso de UCI	Días de estancia en UCI	INICIALES	
			Si / No				Procedencia (Hospital, Domicilio)	
Diagnóstico de ingreso							Sexo	
							Edad	
							Peso	
							Talla	
Sistema afectado que desencadenó SIRS / SEPSIS								

De la Muestra

Fecha de diagnóstico de SIRS	Severidad a la toma de muestra	Días transcurridos desde inicio de SIRS hasta toma de muestra	Días transcurridos desde inicio de SEPSIS hasta toma de muestra

Antecedentes Médicos

	SI / No Años	Tratamiento		SI / No Años	Tratamiento
DM			Cardiopatía isquémica		
Hipertensión			Cáncer		
Traumáticos			Toxicomanías		
Quirúrgicos			Otros		

Padecimiento Actual

Diagnóstico	Comentario
1.-	
2.-	
3.-	
4.-	

SIRS

Fecha	Frecuencia Cardíaca	Frecuencia Respiratoria	Temperatura	Leucocitosis	T/A
Antibioticoterapia Empírica	Si / NO	Especificar			

SEPSIS

Foco de inicio	Sepsis de origen hospitalario	SI / NO	Cultivo Positivo	Si / No	
Tipo de muestra	Patógenos	Comentario / Sensibilidad			
Presento Sepsis grave	Si / No	Tiempo de duración		Numero de órganos afectados	
Presento choque séptico	Si / No	Tratamiento	Quirúrgico	Antibioticoterapia	Antibiótico usado

Gravedad al momento de toma de muestra

	Puntaje
APACHE II	
SOFA	
SAPS	
MODS	

Evolución Final

Curación Total	Motivo de egreso
	Mejoría
Si	Curación total
No	Envío a otro centro Hospitalario
Defunción	Muerte tiene relación a proceso Infeccioso
Si	Si
No	No

Laboratoriales

Fecha	%Monos	Col T	AST	Amilasa	Gasometría
ERITROS	%Eos	Trigl	ALT	Lipasa	PH
HB	%Bas	PT	GGT	Glu	FiO2
HTO	#Neos	Albumina	DHL	UREA	PO2
Plt	#LINFOS	Globulina	FA	CREAT	PCO2
Leucos T	#Monos	BT	Na	TP	HCO3
%Neos	#Eos	BD	K	TTP	BE
%LINFOS	#Bas	BI	Ca	INR	LACTATO