



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**Medición de Hsp70 y HMGB1 y su correlación con los días de estancia hospitalaria en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano en la Unidad de Cuidados Intensivos y Medicina Crítica y la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, del Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI “Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” del Instituto Mexicano del Seguro Social.**

**TESIS QUE PRESENTA**

**DRA. PAOLA PATRICIA SOTO SANCHEZ**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA**

**DE LA ESPECIALIDAD EN**

**MEDICINA DEL ENFERMO EN ESTADO CRÍTICO**

**ASESOR:**

**\*DRA. ROCIO ALVARADO DIEZ**

**\*\*DR. EDUARDO FERAT OSORIO**

**MEXICO, D.F.**

**FEBRERO 2013**

\* Unidad de Cuidados Intensivos y Medicina Crítica Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI “Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” IMSS.

\*\* Servicio de Gastrocirugía y Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI “Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” IMSS.



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.

**DOCTORA DIANA G. MENEZ DIAZ**  
**JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACION EN SALUD**  
**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**DOCTOR. MARCO ANTONIO LEON GUTIERREZ**  
**PROFESOR TITULAR DEL CURSO EN ESPECIALIZACION EN**  
**MEDICINA DEL ENFERMO EN ESTADO CRÍTICO**  
**UMAE. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN. SIGLO XXI**

**M. en C. DOCTORA. ROCIO ALVARADO DIEZ**  
**ASESOR Y MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE MEDICINA CRITICA Y**  
**TERAPIA INTENSIVA**  
**UMAE. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN. SIGLO XXI**

**D. en C. DOCTOR. EDUARDO FERAT OSORIO**  
**ASESOR Y MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GASTROCIRUGIA E INVESTIGADOR**  
**ASOCIADO DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION**  
**MEDICA EN INMUNOQUÍMICA**  
**UMAE. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN. SIGLO XXI.**



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud

**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3601  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA 25/06/2012

**M.C. ROCIO ALVARADO DIEZ**

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

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

**Medición de HSP-70 y HMG- B1 y su correlación con los días de estancia hospitalaria en la UCI en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano en la Unidad de Cuidados Intensivos.**

que usted 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-2012-3601-89

ATENTAMENTE

**DR. CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA**

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

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

## **AGRADECIMIENTOS.**

Al ser más importante en la vida, DIOS. Gracias por darme la oportunidad de vivir, por las enseñanzas y pruebas otorgadas pero sobretodo por acompañarme en este camino y mostrarme que por más árido que parezca siempre se puede salir adelante.

A los pilares más grandes y fuertes en mi vida. A mis PADRES. A ti PAPÀ por ser mi ejemplo, por darme las armas para salir adelante y enseñarme que todo lo que se consigue en la vida es con esfuerzo. Gracias por tu amor y apoyo incondicional. A ti MAMÀ por ser mi motor, por tu amor, tu cuidado y tu protección, por las miles de bendiciones dadas día con día. Gracias a ambos por hacer de mi lo que soy. Los amo con toda el alma.

A mi gran AMOR Jorge, porque nuestro destino estaba trazado desde el primer día que te vi, convirtiéndote en mi gran amigo, colega, mi apoyo, mi paño de lágrimas, mi compañero de aventuras y el amor de mi vida. Gracias por soportar ausencias, distancias, cansancios. Porque me enseñaste a amar de una forma incondicional y a confirmar ese compromiso que un día nos hicimos "en las buenas y en las malas". Te AMO con todo lo que soy.

A mis HERMANOS, que aunque sé que no existe la democracia, nosotros nos elegiríamos para volver a estar juntos y seguir compartiendo cada uno de los momentos de nuestras vidas.

A mi GRAN FAMILIA. Gracias por su interés, sus llamadas, sus ánimos. Por no permitirme desfallecer y mantenernos unidos sobrepasando tiempos y distancias.

A mis maestros. Al Dr. LEON por enseñarme que la Medicina Critica es pasión. Por cada una de las bases otorgados durante dos años y enseñarme a buscar el porqué de las cosas. Por permitirme entrar y formar parte de esta gran casa. Al Dr. GALLEGOS por ser un gran apoyo profesional pero también personal. Gracias.

A mi asesora, Dra. ALVARADO, primero que nada por su amistad inigualable, por sus enseñanzas, por compartir conmigo este proyecto. Gracias por estar pendiente en cada momento y ayudarme a confrontar mis errores y aciertos.

A mi asesor, Dr. FERAT por continuar en ese mundo complejo de la biología molecular buscando la respuesta a tantas preguntas, con el único fin de ofrecer mejores resultados a los pacientes, tomando siempre la base del conocimiento. Gracias.

A la Dra. ILKA BOSCO, por ayudarme a entender lo que parece tan complejo. Gracias por los desvelos y horas dedicadas a este proyecto pero sobretodo por los ánimos para concluirlo. Fue un gusto conocerte. Gracias.

A mis compañeros y amigos, por el inmenso apoyo que me otorgaron en los momentos difíciles. Gracias por compartir risas, regaños, guardias, cansancios y desvelos. Por mostrarme mis errores pero sobretodo por ayudarme a corregirlos. Éxito compañeros combatientes! Donde quiera que estén. Gracias

Al departamento de Inmunohistoquímica de este hospital, quienes continúan en su área sembrando y cosechando una serie de proyectos invaluable, por permitir involucrarnos en ellos y seguir apoyando a tantos médicos jóvenes que inician o terminan un camino. Gracias.

## **INDICE GENERAL**

RESUMEN	<b>6</b>
INTRODUCCION	<b>10</b>
JUSTIFICACION	<b>11</b>
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	<b>12</b>
HIPÓTESIS	<b>12</b>
OBJETIVO	<b>12</b>
MATERIAL Y METODOS	<b>13</b>
PROCEDIMIENTO	<b>15</b>
ASPECTOS ETICOS	<b>16</b>
ANALISIS ESTADISTICO	<b>17</b>
RESULTADOS	<b>18</b>
DISCUSION	<b>24</b>
CONCLUSIONES	<b>27</b>
ANEXOS	<b>28</b>
BIBLIOGRAFIA	<b>32</b>

## RESUMEN:

**Título:** Medición de Hsp70 y HMGB1 y su correlación con los días de estancia hospitalaria en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano en la Unidad de Cuidados Intensivos y Medicina Crítica y la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, del Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” del Instituto Mexicano del Seguro Social.

**Antecedentes:** La sepsis es un síndrome clínico caracterizado por la presencia del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) más la presencia de un agente patógeno (Anexo 1). La inflamación es el mecanismo central en el que la respuesta inmune innata reconoce la presencia de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés) recluta células para eliminar los agentes patógenos a través de la activación de cascadas de señalización intracelular que inducen la transcripción genética de mediadores inflamatorios encaminados a restablecer la homeostasis. Una de las primeras respuestas del huésped es la liberación de la proteína fijadora de lipopolisacáridos que forma un complejo con el lipopolisacárido bacteriano y facilita la unión de éste al receptor CD-14 y a TLR-4 en células presentadoras de antígenos. En los últimos años, parte del estudio del paciente con sepsis involucra la caracterización de diferentes moléculas para conocer el pronóstico de la enfermedad, conocidos como biomarcadores pronósticos. Recientemente se han estudiado la proteína intranuclear HMGB1 y la proteína de choque térmico Hsp70.<sup>3</sup> Hsp70 parece tener un papel en la regulación de la respuesta inflamatoria generada por LPS, sin embargo, hasta el momento se desconoce el tipo de regulación que ejerce la respuesta inflamatoria y tampoco el papel que tiene como biomarcador pronóstico de los pacientes sépticos. Por su parte HMGB1 es una proteína que tiene funciones intranucleares en la transcripción genética, y su acetilación favorece su liberación al espacio extracelular en donde puede actuar amplificando la respuesta inflamatoria. Su incremento en pacientes con sepsis se asocia con mal pronóstico.<sup>5</sup>

**Objetivo:** Medir los niveles de Hsp70 y HMGB1 en pacientes con sepsis, sepsis grave y choque séptico temprano y su correlación con los días de estancia y evolución mediante la escala de SOFA y APACHE II.

**Material y Métodos:** Estudio prospectivo, longitudinal, observacional, descriptivo y comparativo en el que se incluyeron a los pacientes que ingresaron a la Unidad de Cuidados Intensivos con diagnóstico de sepsis grave y choque séptico temprano, en las primeras 48 horas de inicio del cuadro, realizándose una toma de suero a su ingreso, a las 48 hrs de la primera muestra y a las 72 horas determinándose los niveles de Hsp70 y HMGB1, así como determinación de la escala SOFA.

**Plan de Análisis:** Los datos se recolectaron en una base de datos creada en Excel. Se realizó análisis Bivariado para las variables descriptivas y correlación de Pearson, y se analizaron con el programa SPSS versión 19. La significancia estadística se fijó en valor de  $p < 0,05$ .

**Resultados:** Se analizaron treinta y tres pacientes con edades entre los 21 y 84 años (x 49 años), de los cuales 19 (58%) pertenecen al género masculino y 14 (42%) al femenino. Al ingreso se clasificaron por diagnóstico: 7 pacientes (21%) desarrollaron sepsis, 10 pacientes

(30%) sepsis severa y 16 pacientes (49%) choque séptico. Según el puntaje de APACHE II al ingreso consideramos un nivel basal de 15 puntos, de los cuáles 14 pacientes (42%) presentaron <15 puntos y 19 pacientes (58%) >15 puntos y por escala de SOFA 24 pacientes tuvieron <10 puntos y 9 >10 puntos. Por días de estancia se registró un rango de 2 a 91 días (x 34). En relación a la evolución clínica, 13 pacientes (39%) fallecieron, de los cuales 5 de ellos fueron diagnosticados con sepsis grave y 8 pacientes con choque séptico. Las concentraciones séricas de Hsp70 entre los tres grupos (sepsis, sepsis grave y choque séptico) no mostraron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, en los pacientes con choque séptico se observó una tendencia a la disminución durante el seguimiento, hecho no evidente en los pacientes con sepsis grave y sepsis, (P:  $_{0.1712}$ ). En relación a la sobrevida, los pacientes que sobrevivieron con diagnóstico de choque séptico, los niveles de Hsp70 fueron menores y durante el seguimiento disminuyen. Respecto a los niveles de HMGB1 se observó una tendencia a incrementarse en aquellos pacientes con choque séptico o sepsis grave en relación a los pacientes con sepsis, sin encontrar diferencia significativa entre grupos (P $_{0.999}$ ). Para HMGB1 se encontró una diferencia estadística al presentar un aumento en los pacientes con choque séptico en relación a los sépticos (P $_{0.0129}$ ). En cuanto al APACHE II de ingreso en aquellos pacientes con >15 puntos comparados con los pacientes <15 puntos, en los niveles séricos de Hsp70 no se encuentra diferencia entre ambos (P $_{0.1567}$ ). En el caso de HMGB1 para los mismos pacientes hay una tendencia al aumento en aquellos con un APACHEII >15 puntos aunque no se reporta diferencia con respecto a los que presentan un puntaje menor. En relación a la correlación entre los días de estancia intrahospitalaria y la puntuación de SOFA se dividieron a los pacientes por sobrevida, encontrándose una relación proporcional de que aquellos pacientes que sobrevivieron con una mayor puntuación de SOFA teniendo una estancia intrahospitalaria más prologada (r 0.1792 P $_{0.5773}$ ), en cambio en los pacientes que no sobrevivieron se reporta una relación inversa donde a mayor puntaje de SOFA la estancia fue menor (r 0.1792 P $_{0.5773}$ ).

#### **Conclusiones:**

1. La molécula de HMGB1 se encuentra más elevada en el grupo de no sobrevivientes en relación a los sobrevivientes.
2. Se observa mayor elevación de Hsp70 en pacientes que no sobrevivieron en relación al grupo que sobrevivió.
3. La Hsp70 no debería elevarse en los pacientes que no sobrevivieron dado su papel anti- inflamatoria debiendo regular la respuesta.
4. En los pacientes que sobrevivieron se mostro niveles iniciales bajos de Hsp70 e incluso con disminución progresiva durante el seguimiento predominante en los pacientes con choque séptico, a diferencia de HMGB1 la cual se incremento en los pacientes con choque séptico a diferencia de sepsis grave.
5. Al clasificar a los pacientes por SOFA, se encontró que los niveles séricos de Hsp 70 y HMGB1 no se determina que haya diferencia entre los pacientes con menor o mayor a 10 puntos.



6. Se encontró la una relación proporcional de que aquellos pacientes que sobrevivieron a mayor puntuación de SOFA teniendo una estancia intrahospitalaria más prologada a diferencia de los pacientes que no sobrevivieron donde muestra una relación inversa a mayor SOFA menor estancia intrahospitalaria.
7. Se encontraron niveles elevados de Hsp70 en la primera muestra, correlacionando con mayores días de estancia intrahospitalaria.

## HOJA DE DATOS

1. Datos del alumno	
Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre: Teléfono: Universidad: Facultad o Escuela: Carrera: No. De Cuenta	Soto Sánchez Paola Patricia 0155-55351056 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Medicina del Enfermo en Estado Crítico 511229424
2. Datos del asesor	
Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre (s)	Alvarado Diez Rocío
Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre (s)	Ferat Osorio Eduardo
3. Datos de la Tesis	
Título: Subtítulo: Numero de Paginas: Año	MEDICIÓN DE Hsp70 Y HMGB1 Y SU CORRELACIÓN CON LOS DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA EN PACIENTES CON SEPSIS GRAVE Y CHOQUE SÉPTICO TEMPRANO EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS. 33 paginas 2013

## INTRODUCCION.

### FISIOPATOLOGIA DE LA SEPSIS.

La sepsis es un síndrome clínico caracterizado por una respuesta multi-sistémica hacia una infección, y se define como la presencia del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) más la presencia de un agente patógeno (Anexo 1). La sepsis está compuesta por un mosaico de conexiones celulares, bioquímicas y redes de interacción órgano-órgano<sup>1</sup>. Un hilo conductor que conecta estas respuestas es la inflamación como mecanismo central en el que la respuesta inmune innata reconoce la presencia de factores patógenos, recluta células adicionales para eliminar los agentes patógenos e implica la activación de mecanismos que sirven para limitar y restringir el componente pro-inflamatorio y restablecer el equilibrio hemostático.

Una de las primeras respuestas del huésped es la liberación de una molécula reproducida en el hígado denominada "proteína fijadora de lipopolisacáridos" la que forma un complejo con el lipopolisacárido bacteriano que facilita la unión de éste al receptor CD-14 en células presentadoras de antígenos. La consecuencia de este evento es la transcripción genética y liberación secuencial de mediadores inflamatorios del tipo del Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleucina 1 (IL-1 $\beta$ ) y HMG-B1, que se producen en término de minutos a horas después del contacto, y cuya traducción clínica constituye algunos de los signos y síntomas clínicos de la sepsis, incluidas entre otras la fiebre y la hipotensión.<sup>2</sup>

Existe un balance entre las citocinas que se liberan de forma primaria o pro-inflamatorias, con la producción de citocinas anti-inflamatorias como IL-10, IL-4, IL-6, Factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el antagonista del receptor IL-1 (IL-1ra). En la mayoría de las veces la respuesta pro-inflamatoria es adecuadamente compensada y se limita la respuesta inflamatoria a la infección, sin embargo, en algunos casos cuando predomina la respuesta anti-inflamatoria, se puede originar una sobre infección y facilitar el desarrollo de sepsis grave y choque séptico. La respuesta anti-inflamatoria se le conoce como Síndrome de Respuesta Anti-Inflamatoria Compensadora y se caracteriza principalmente por el incremento en la concentración sérica de IL-10, la disminución en la expresión de moléculas de clase II del complejo principal de histocompatibilidad (HLA-DR) en monocitos, la disminución sérica de interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), el incremento del receptor antagonista de interleucina 1 (IL1Ra) y el incremento de la apoptosis.<sup>2</sup>

En los últimos años, parte del estudio del paciente con sepsis involucra la caracterización de diferentes moléculas para conocer el pronóstico de la enfermedad.

Estas moléculas se les conoce como biomarcadores y su finalidad es marcar las pautas de terapéutica objetiva y oportuna en los pacientes con sepsis de reciente inicio. Dentro de este grupo de moléculas se encuentran las citocinas del tipo IL-6, la pro-calcitonina, entre otras. Recientemente se han incluido en el estudio de potenciales biomarcadores a la proteína intranuclear HMGB1 y la proteína de Choque térmico Hsp70. (IL-6, Hsp70 y HMGB1).<sup>3</sup>

Las proteínas de choque térmico del inglés heat shock protein( HSP), están presentes en todas las células y su expresión se incrementa en situaciones de estrés endógeno o exógeno (hipertermia, hipotermia, hipoxia, especies reactivas de oxígeno, infección).

Dichas proteínas son chaperonas intracelulares que aseguran que cada proteína alcance su conformación funcional en el lugar y en el momento adecuado. La molécula de Hsp70 se propuso como ligando de TLR4 y TLR2, por lo que es capaz de inducir la activación de la cascada de señalización que activa al factor transcripcional NF- $\kappa$ B y la consecuente transcripción de mediadores inflamatorios del tipo TNF- $\alpha$  e IL-6.<sup>4</sup>

Recientemente se ha reportado que Hsp70 tiene un papel en la regulación negativa de la respuesta inflamatoria generada por LPS, que es un ligando de TLR4<sup>5</sup> y uno de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), que más se han estudiado y considerado como responsable de la sepsis. Además de lo anterior, Hsp70 puede encontrarse en concentraciones variables en el suero de pacientes con sepsis. Aún no se ha podido conocer el papel de Hsp70 en la regulación de la respuesta inflamatoria y tampoco establecer una correlación con el pronóstico de los pacientes sépticos.

Por su parte HMGB1 es una proteína que tiene funciones intranucleares básicas en la transcripción de proteínas, sin embargo existe la activación de cascadas de señalización intracelular que inducen la producción de mediadores inflamatorios, HMGB1 se acetila y libera al espacio extracelular en donde puede actuar amplificando la respuesta inflamatoria a través de la unión de receptores del tipo RAGE o TLR4. Su incremento en pacientes con sepsis se asocia con mal pronóstico.<sup>6</sup>

## **JUSTIFICACION**

En el año 2001 se reportó que 750,000 personas egresaron de hospitales estadounidenses con diagnóstico de sepsis. La incidencia registrada fue de 300 casos por cada 100,000 habitantes, y la mortalidad de 18.6%. En los países industrializados la incidencia de sepsis severa es de 50 a 100 casos por cada 100,000 personas. En Europa y Norteamérica la sepsis y el choque séptico en conjunto son la principal causa de muerte en pacientes que ingresan a terapia intensiva, con mortalidad asociada de 30 a 45%<sup>7</sup>. El pronóstico de la sepsis puede ser mejorado, sin embargo como se muestra en estudios recientes, la sepsis aun continua mostrando una mortalidad alta. En relación con el costo económico, la atención aproximada de este grupo de pacientes representa un gasto de 5 a 10 mil millones de dólares anuales.<sup>8</sup> Algunos estudios han puesto de relieve el papel de las citocinas en la fisiopatogenia de la enfermedad e incluso Hsp70 y HMGB1 se han propuesto como biomarcadores para evaluar la gravedad, sobrevida y el desarrollo de complicaciones en pacientes con sepsis.

Inclusive se ha especulado que Hsp70 y HMGB1 pueden ser blancos terapéuticos en pacientes con sepsis.

#### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

1. ¿El incremento en los niveles séricos de Hsp70 se asocia con menor estancia en la UCI en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano?
2. ¿El incremento en los niveles séricos de HMGB1 se asocia con mayor estancia en la UCI en los pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano?

#### **HIPOTESIS:**

1. El incremento en los valores séricos de mediadores inflamatorios como Hsp70 en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano se asocia con disminución de los días de estancia hospitalaria en la UCI.
2. El incremento en los valores séricos de mediadores inflamatorios como HMGB1 en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano se asocia con incremento de los días de estancia hospitalaria en la UCI.

#### **Nula:**

1. No existe asociación alguna entre el incremento de los niveles séricos de Hsp70 y la disminución de los días de estancia hospitalaria en UCI, en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano.
2. No existe asociación alguna entre el incremento en la estancia hospitalaria en UCI de los pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano y el incremento en la concentración sérica de HMGB1.

#### **OBJETIVOS:**

##### **General:**

- Medir los niveles séricos de Hsp70 en los pacientes con sepsis grave y choque séptico.
- Correlacionar los niveles de Hsp70 y los días de estancia hospitalaria en la UCI, de los pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano.
- Medir los niveles séricos de HMGB1 en los pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano.
- Correlacionar los niveles de HMGB1 en los paciente con sepsis grave y choque séptico temprano y los días de estancia hospitalaria en la UCI.

## **MATERIAL Y METODOS:**

Diseño del estudio:

- Estudio longitudinal, prospectivo, observacional, descriptivo y comparativo.

## **UNIVERSO DEL TRABAJO:**

Pacientes que ingresan a la Unidad de Medicina Crítica y Terapia Intensiva del Hospital de Especialidades (HE) del Centro Médico Nacional Siglo XXI (CMN SXXI) "Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez" del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) con diagnóstico de sepsis o choque séptico en las primeras 48 hrs de inicio del cuadro en el periodo comprendido de enero del 2012 a Julio del 2012.

## **DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES:**

1. Variable Dependiente

Estancia hospitalaria en UCI de pacientes con Sepsis Grave y Choque séptico

- Variable Ordinaria

2. Variable Independiente.

Concentraciones séricas de Hsp70 y HMGB1

- Variables Continuas Numéricas

## **DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES:**

Sepsis: Síndrome clínico definido por la confirmación o sospecha de infección más datos de respuesta inflamatoria sistémica<sup>9</sup>.

Sepsis grave: Sepsis complicada con disfunción orgánica, hipotensión o presencia de hipoperfusión tisular.<sup>9</sup>

Choque séptico: Estado de falla circulatoria aguda caracterizada por hipotensión arterial persistente inexplicable por otras causas persiste a pesar de una adecuada reanimación con líquidos y con requerimiento de vasopresor. La hipotensión se define como presión arterial sistólica menor de 90 mmHg o una reducción de más de 40 mmHg de la sistólica de y/o una presión arterial media menor de 70 mmHg<sup>9</sup>.

## **TAMAÑO DE LA MUESTRA:**

Al ser estudio observacional, no es necesario realizar ecuación para determinar el tamaño de la muestra se ingresarán los pacientes que ingresen a la UCI, del Hospital de Especialidades de CMN SXXI, que cumplan con los criterios de selección.

## CRITERIOS DE SELECCIÓN:

- Criterios de Inclusión:

1. Pacientes que otorguen su consentimiento de participar en este estudio a través de su firma (o en los casos en los que el paciente no pueda hacerlo, la de su representante legal), en el formato de consentimiento informado. (Anexo 2)
2. Pacientes ingresados en la UCI con sepsis o cualquiera de sus complicaciones (sepsis grave o choque séptico), con menos de 48 horas evolución de acuerdo a los criterios de la ACCP 7 (Anexo 1)
3. Pacientes de sexo masculino y de sexo femenino.
4. Pacientes entre 18 y 60 años de edad.

- Criterios de NO Inclusión sépticos:

1. Pacientes que rechacen participar en el estudio.
2. Pacientes con inmunodeficiencias o inmunocompromiso como los portadores de VIH/SIDA, pacientes con hepatitis crónica por virus de la hepatitis B o C, ó enfermedades autoinmunes.
3. Pacientes que estén recibiendo terapia de sostén con inmunosupresores o inmunomoduladores .
4. Embarazo.
5. Pacientes con descontrol de enfermedades crónico-degenerativas, como diabetes mellitus, síndrome metabólico, antes del inicio de la sepsis.

- Criterios de exclusión:

1. Pacientes con expediente clínico incompleto.
2. Pacientes que se retiren del estudio por voluntad propia.
3. Pacientes quienes tengan más de 48 hrs de inicio del cuadro séptico.
4. Pacientes quienes hayan recibido transfusiones sanguíneas en los últimos dos meses.
5. Pacientes quienes hayan recibido tratamiento antimicrobiano de amplio espectro previo al inicio del cuadro séptico.
6. Pacientes cuyas muestras sanguíneas no sean factibles de procesar por situaciones inherentes a la toma o procesamiento de la misma.

## **PROCEDIMIENTO:**

Los pacientes con diagnóstico de sospecha de sepsis que tengan menos de 48 horas de evolución fueron incluidos en el estudio. Médicos residentes de la UCI se encargaron de evaluar los criterios de inclusión de los pacientes, (Anexo 2) de solicitar la autorización para participar en el estudio y avisaron a la Unidad de Investigación Médica Inmunoquímica (UIMI) del ingreso de un paciente con criterios de inclusión completos para la toma de muestras. La toma de sangre se realizó por catéter central con técnica estéril y se colectaron dos tubos con 4mL sangre en tubos con EDTA para realizar la identificación de subpoblaciones y un tubo de 5 ml sin anticoagulante para obtención de suero. A cada paciente se le tomaron tres muestras seriadas, al momento del diagnóstico, a las 72 horas y a los 7 días de evolución posterior al diagnóstico.

### **Cuantificación de HMGB1**

Se realizó en 2 días, el día primero se reconstituyen el Standard de 320ng/ml en 1ml del diluyente, esperando 10 minutos. Se colocaron 100µl del standard en tubos eppendorf y se colocaron nuevamente 300µl de la solución diluyente a una concentración final de 80ng/ml. Se realizaron a partir de esta solución 8 diluciones seriadas 1:2 para obtener la curva tipo. Se reconstituyó el control positivo con 1ml del diluyente. Se adicionaron 50µl de la solución diluyente a cada pozo y 50µl más para los pozos del blanco. Se colocaron 50µl de la curva tipo, muestras o control positivo a los pozos correspondientes. Se agitó la placa a temperatura ambiente durante 15min a 300rpm, se cubrió la placa y se dejó entre 20 a 24 horas a 37 °C.

El segundo día, se diluyeron 20µl de la solución de lavado con 800ml de agua inyectable. Se reconstituye el POD-conjugate con 12ml del solvente conjugado para obtener la solución POD-conjugado, mezclar y esperar 10 min. Se lavó 5 veces, realizando aspirados y colocando 400µl de solución de lavado y se deja secar sobre papel secante por inversión. Se colocan 100 µl de POD-conjugate a cada pozo e incuba por 2 horas a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de la incubación, se mezclan 6 ml del reactivo de color A con 6ml de reactivo de color B en un tubo de 50ml para obtener la solución del sustrato. Se realizaron nuevamente 5 lavados y se adicionó 100 µl de solución de sustrato a cada pozo, se revela por 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad. Al final se adicionan 100 µl de solución de paro a cada pozo y se leen las absorbencias a 450nm.



### **Cuantificación de Hsp70**

Se realizó una curva en 7 tubos con las siguientes concentraciones. Se colocó 0.995ml de la solución diluyente y se añadió 5 µl de la solución estándar de Hsp70 (10mg/ml). Se mezcló bien y se realizó una curva tipo. Se preparó un control de recuperación al que a 0.995ml de suero se añade 5ml de la solución estándar de Hsp70. Se adicionó 100 µl de la curva tipo, las muestras sin diluir y el blanco a la placa de Hsp70, se adicionó además 100 µl del suero control sano y suero control sano + 50ng/ml Hsp70, se cubre la placa y se deja a temperatura ambiente por 2 horas. Pasada la incubación se aspiró y lavó 4 veces con 400 µl de la solución de lavado previamente diluida y se seca por inversión. Nuevamente se le adicionan 100 µl del anticuerpo a-Hsp70 a cada pozo, se cubre y se deja incubar por 1 hora a temperatura ambiente. Se procede a realizar 4 lavados igual que el paso anterior. Se adicionaron 100 µl del conjugado HRP a cada pozo se cubre e incuba 1 hora. Transcurrido el tiempo se realizaron más lavados y añaden 100 µl del sustrato TMB a cada pozo. Se dejó incubar en la oscuridad a temperatura ambiente por 30 minutos, para detener la reacción se colocan 100 µl de solución de paro y se lee a 450nm.

Dichas mediciones se realizaron por el personal del Comité de Investigación en Inmunoquímica del CMN Siglo XXI.

### **ASPECTOS ÉTICOS.**

Para la realización del presente protocolo se solicitó la aprobación por el Comité Nacional de Investigación Científica del IMSS. Se considera que los sujetos sometidos a este estudio tendrán un riesgo mayor al mínimo, por lo que se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado antes de iniciar el estudio (Anexo 3, Carta de Consentimiento informado).

Los procedimientos propuestos están de acuerdo con las normas éticas, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki 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, la Declaración de Helsinki y sus enmiendas, el Informe Belmont, el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos.

## **RECURSOS Y FACTIBILIDAD.**

Recursos humanos:

El investigador responsable, los investigadores asociados, los colaboradores y los estudiantes que participan en este proyecto tienen experiencia con las estrategias experimentales que se emplearon, así como con el manejo de muestras de pacientes y con la coordinación y colaboración que se requiere con el personal médico de este hospital.

Recursos físicos y materiales:

La UIMlq y el servicio de UCI cuentan con los equipos que se requieren para la realización de este proyecto.

Factibilidad:

Este proyecto es factible de realizar debido a los recursos humanos, físicos y materiales con que se cuentan, a la experiencia en investigación de este grupo y al acceso que se tiene a los pacientes que ingresan a este hospital.

## **ANALISIS ESTADISTICO.**

Los datos se recolectaron en una base de datos creada en Excel. Se realizó análisis Bivariado para las variables descriptivas y correlación de Pearson, siendo analizados con el programa SPSS version 19. La significancia estadística se fijó en valor de  $p < 0,05$ .

Se midió la escala de SOFA con un nivel de corte de 10 y escala de APACHE II con un nivel de corte de 15.<sup>13,14</sup>

## RESULTADOS

Se analizaron treinta y tres pacientes con edades entre los 21 y 84 años (x̄ 49 años), de los cuáles 19 (58%) pertenecen al género masculino y 14 (42%) al femenino. Clasificándolos por diagnóstico de ingreso se encontraron que 7 (21%) con sepsis, 10 (30%) con sepsis severa y 16 (49%) con choque séptico. Se clasificaron también según el puntaje de APACHE II al ingreso considerándose un nivel de corte de 15 puntos, ya que el 100% de los pacientes eran pacientes quirúrgicos correspondiendo a una mortalidad del 12%<sup>19</sup>, de los cuáles 14 pacientes (42%) presentaron <15 puntos y 19 pacientes (58%) >15 puntos. Por la escala de SOFA se planteo un valor de corte de 10 puntos debido a que a partir de este valor se establece una mortalidad del 80%<sup>18</sup>, en la que 24 pacientes tuvieron <10 puntos y 9 >10 puntos. Por días de estancia se registró un rango de 2 a 91 días (x̄ 34 días). En relación a la evolución clínica 13 pacientes (39%) fallecieron de los cuales 5 tuvieron pacientes sepsis grave y 8 pacientes choque séptico. (Tabla 1).

Tabla 1. DATOS DEMOGRAFICOS DE LA POBLACION DE ESTUDIO

Pacientes	No. Total pacientes / % 33/100%
Masculino	19/58%
Femenino	14/42%
Edades	21 a 84 años ( x̄ 49 años)
Diagnósticos:	
• Sepsis	7 (21%)
• Sepsis Grave	10 (30%)
• Choque Séptico	16 (49%)
*APACHE II < 15	14(42%)
APACHE II > 15	19(58%)
**SOFA	24 pacientes tuvieron <10 puntos 9 pacientes tuvieron > 10 puntos.
***EIH	2-91 (x̄ 34)
Mortalidad	13(39%)
• Sepsis	0
• Sepsis Grave	5
• Choque Séptico	8

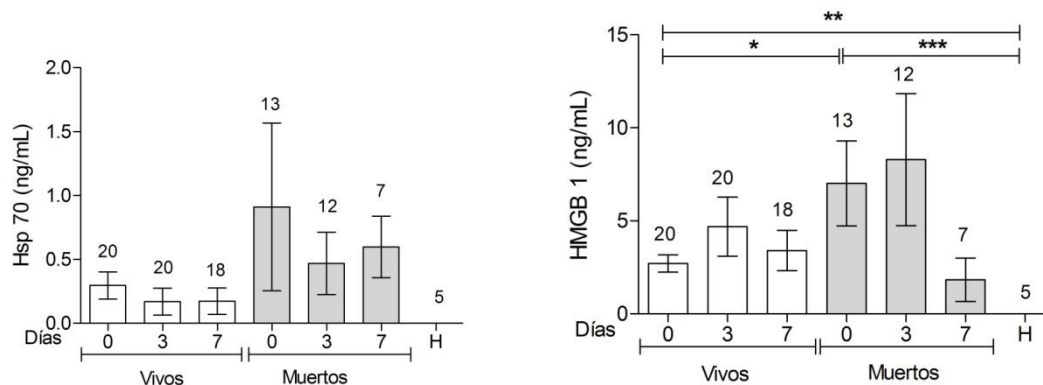
\* APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II.

\*\* SOFA: Sequential Organ Failure Assessment

\*\*EIH: Estancia Intra hospitalaria

**La concentración de HMGB1 en la primera muestra de los pacientes que fallecieron fue mayor con respecto a los que sobrevivieron.**

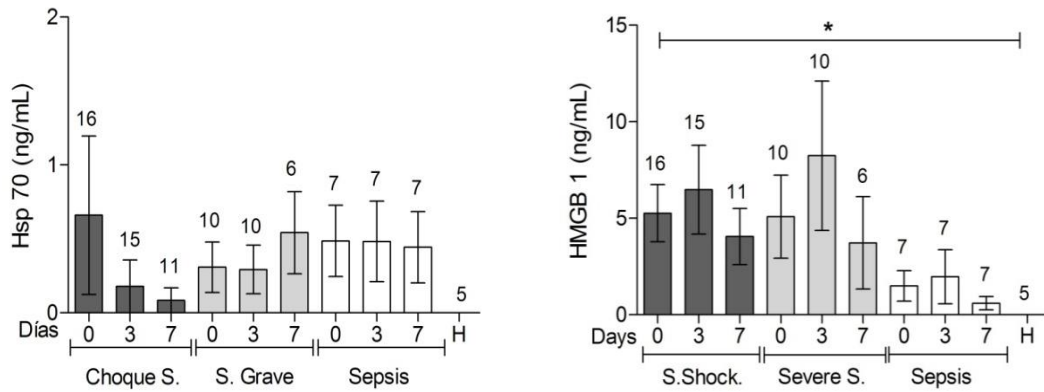
Se analizaron las concentraciones de las proteínas Hsp70 y HGB1 en suero de todos los sujetos de acuerdo al desenlace. Los valores de Hsp70 en los que sobrevivieron tuvieron un rango desde 0 hasta 1.330 ng/ml y de 0 a 8.623 ng/ml en los no sobrevivientes. No se observó diferencia estadísticamente significativa cuando se compararon las concentraciones de Hsp70 entre los vivos y los que fallecieron, en ninguna de las tres determinaciones que se realizaron en los pacientes (P:  $_{0.8837}$ ), al igual que en el grupo de sobrevivientes contra sanos (P:  $_{0.6083}$ ) y el grupo de no sobrevivientes contra sanos (P:  $_{0.6903}$ ). Las concentraciones de HMGB1 en suero de los pacientes que sobrevivieron tuvieron un rango de 0 hasta 8.623 ng/ml y de 0 a 23.68 ng/ml en los que no sobrevivieron. Las concentraciones de HMGB1 fueron menores estadísticamente significativas con respecto al grupo de estudio en la primera determinación, tanto de los pacientes que sobrevivieron como de los que fallecieron (P<0.01 y P <0.001 respectivamente). Se encontró incremento en los valores de HMGB1 en la primera muestra de los pacientes que fallecieron con respecto a los que sobrevivieron (P 0.05), y aunque los valores de HMGB1 en la segunda muestra fue mayor en los que no sobrevivieron con respecto a la primera, no mostró diferencia estadísticamente significativa con respecto a la segunda muestra de los pacientes que sobrevivieron. ( Fig.1)



**No existen diferencias en las concentraciones de Hsp70 y de HMGB1 en los pacientes cuando se analizó el diagnóstico de ingreso.**

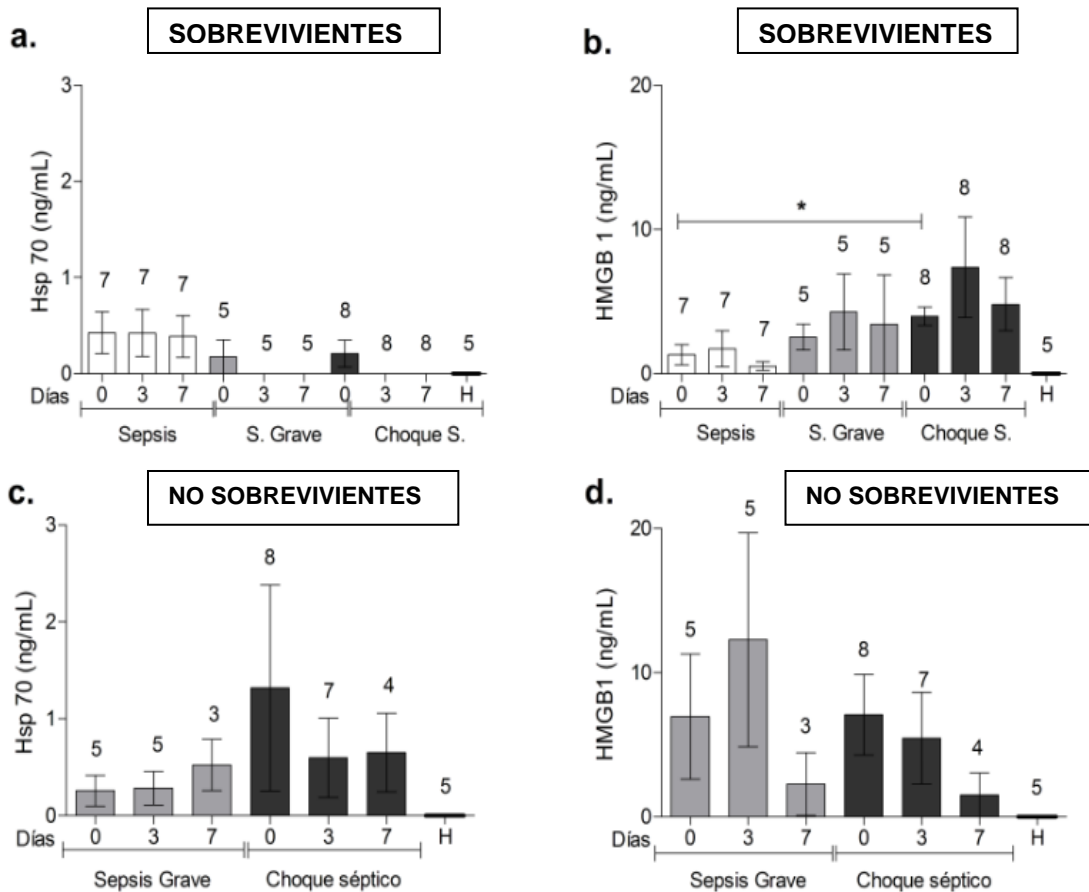
Se analizó la concentración de Hsp70 y HMGB1 en todos los pacientes de acuerdo al diagnóstico de ingreso, sepsis, sepsis grave o choque séptico. No se encontró diferencia en las concentraciones con respecto al diagnóstico en ninguno de los grupos diagnósticos ni en ninguna de las muestra de evaluación, al ingreso, a las 48 horas o a las 72 horas.

La única diferencia que se encontró fue entre el grupo de voluntarios y el grupo de pacientes con choque séptico en relación a las concentraciones de HMGB1, en los que los pacientes presentaron incremento de las concentraciones con diferencia estadísticamente significativa (P\_0.0154). (Fig. 2).



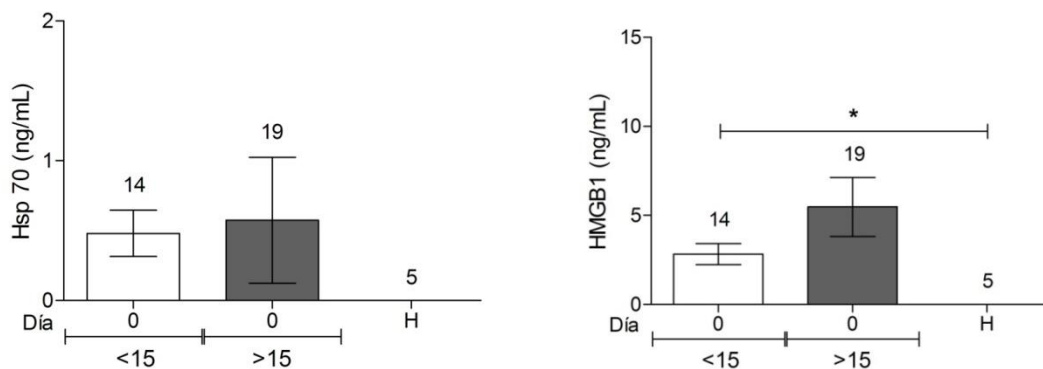
**La gravedad de la sepsis se asocia con el incremento de HMGB1 únicamente en el grupo de sobrevivientes.**

Se analizaron las concentraciones de ambas moléculas de acuerdo al diagnóstico y el desenlace. En los pacientes que fallecieron, las concentraciones de Hsp70 no mostraron diferencias en cuanto a la gravedad de la enfermedad en ninguna de las tres determinaciones. Lo mismo ocurrió con HMGB1. En cuanto a los pacientes con sepsis, sepsis grave y choque séptico que sobrevivieron, únicamente los pacientes con choque séptico presentaron incremento en la concentración de HMGB1 con respecto a los pacientes con sepsis en la primera determinación ( P\_0.0129) (Fig.3 a,b,c,d.)



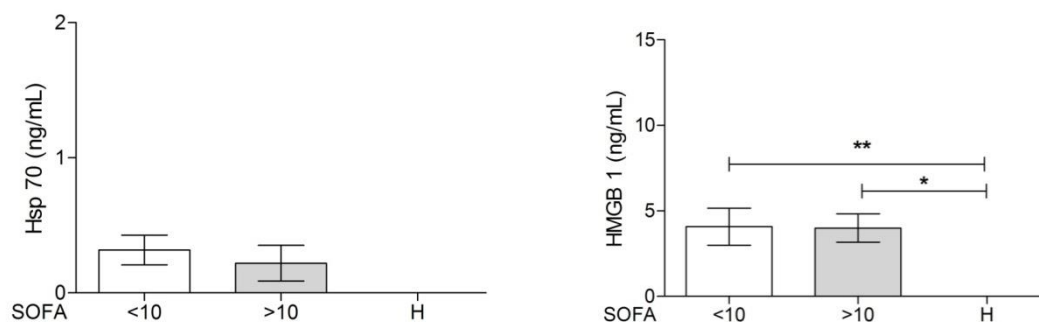
Las concentraciones de Hsp70 y HMGB1 no presentan diferencias cuando se aplica la escala de APACHE II.

Se obtuvo la escala de APACHE II el ingreso en todos los pacientes y en función al punto de corte de 15 puntos se analizaron las concentraciones de Hsp70 y HMGB1. No se encontraron diferencias estadísticamente en cuanto a la gravedad de los pacientes. En el caso de HMGB1 existe diferencia significativa con los pacientes sanos (P\_0.0240) ( Fig. 4)



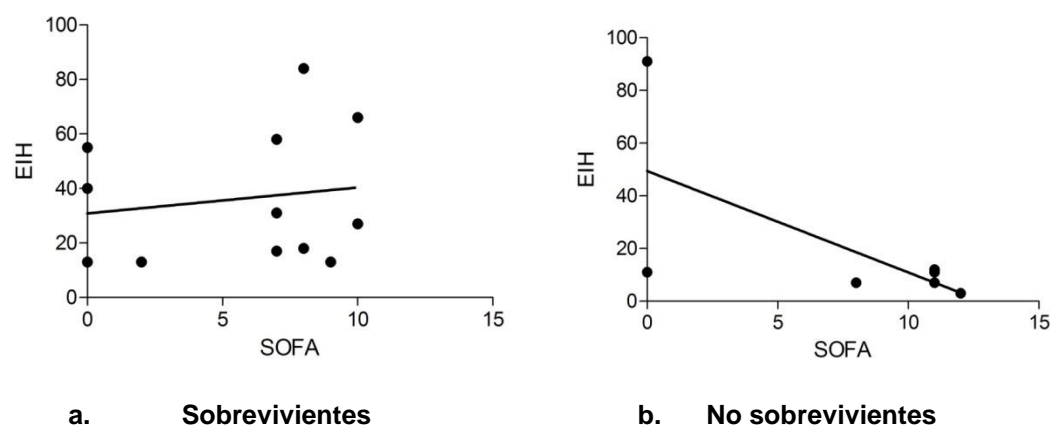
**Las concentraciones de Hsp70 y HMGB1 no presentaron diferencias en relación a la disfunción orgánica evaluada por la escala de SOFA.**

Al clasificar a los pacientes por la escala de SOFA, se encontró que los niveles séricos de Hsp70 y HMGB1 no presentaron diferencias en relación a la disfunción orgánica. Al comparar los valores de HMGB1 de los pacientes con respecto a los controles sanos, encontramos una diferencia significativa para menos de 10 puntos (P\_0.006) y más de 10 puntos (P\_0.0408). (Fig. 5)



**Una mayor puntuación en relación a la disfunción orgánica evaluada por la escala de SOFA guarda una relación directamente proporcional con los días de estancia intrahospitalaria solo en sobrevivientes.**

En relación a la correlación entre los días de estancia intrahospitalaria y la puntuación de SOFA se dividieron a los pacientes por sobrevivida, encontrándose una relación proporcional en aquellos pacientes que sobrevivieron con una mayor puntuación de SOFA teniendo una estancia intrahospitalaria más prolongada ( r 0.1792 P\_0.5773), en cambio en los pacientes que no sobrevivieron se reporta una relación inversa donde a mayor puntaje de SOFA la estancia es menor (r -0.5812 P:\_0.1712). ( Fig.6)

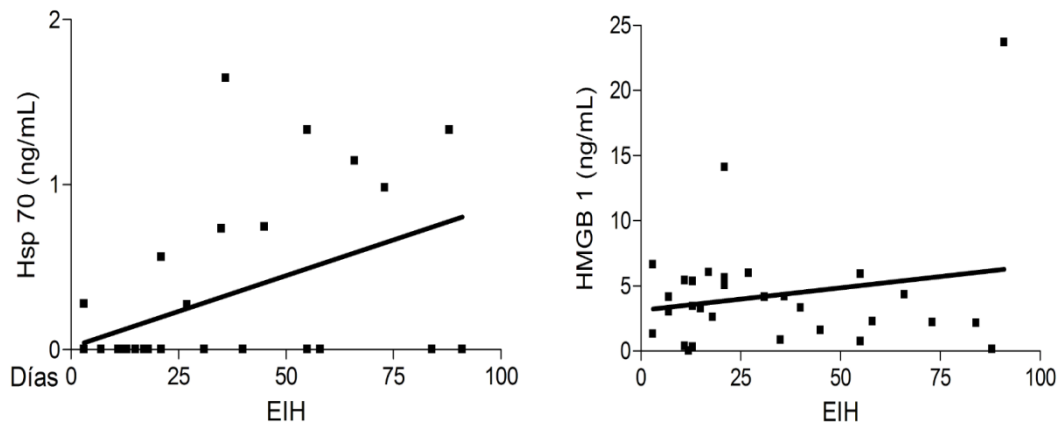


**a. Sobrevivientes**

**b. No sobrevivientes**

**Los niveles de Hsp70 en la primera muestra tienen diferencia con la relación días de estancia intrahospitalaria.**

En relación a la correlación entre los días de estancia intrahospitalaria y los niveles de Hsp70, se encontró diferencia significativa, entre mayor nivel de Hsp70 en la primer muestra, mayor días de estancia intrahospitalaria ( $r$  0.4335  $P$ :\_0.0167) a diferencia de HMGB1 donde no guarda relación ( $r$  0.1999  $P$ :\_0.2896). ( Fig. 7).





## **DISCUSION.**

La respuesta séptica es una cadena de eventos extremadamente compleja que involucran procesos inflamatorios y anti inflamatorios, reacciones humorales, celulares y alteraciones circulatorias. El diagnóstico de la sepsis y la evaluación de su gravedad se complican por la naturaleza altamente variable y no específica de los signos y síntomas de la sepsis. Sin embargo, el diagnóstico precoz y la estratificación de la gravedad de la sepsis son muy importantes, dado la posibilidad de iniciar oportunamente el tratamiento específico.

Los biomarcadores pueden tener un lugar importante en este proceso, ya que pueden indicar la presencia, ausencia o gravedad de la sepsis.

Otros usos potenciales de los biomarcadores incluyen ser de utilidad en el pronóstico, orientar la terapia con antibióticos, la evaluación de la respuesta al tratamiento, la recuperación de la sepsis, la predicción de complicaciones y el desarrollo de disfunción orgánica.

Sin embargo, el papel exacto de los biomarcadores en el manejo de los pacientes sépticos aún no está definido debido a su baja especificidad, incrementándose en procesos inflamatorios no asociados a la sepsis.<sup>10</sup>

Dentro de los principales biomarcadores estudiados se ha propuesto la determinación de moléculas solubles o de membrana; destacando las citocinas, quimiocinas, el cortisol, las proteínas del complemento y del sistema de la coagulación. Algunas se asocian con la evolución clínica como la proteína C reactiva ( PCR), la interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral F (TNF), interleucina 10 ( IL-10), factor tisular, plasminógeno; otras se emplean para diferenciar el SIRS de la sepsis, como la procalcitonina (PCT), interleucina 8 (IL-8) e interleucina 18 (IL-18) que se incrementan en procesos inflamatorios, a excepción de la PCT, el resto no permite diferenciar sujetos con sepsis y SIRS.<sup>11</sup>

Los rangos de corte de los biomarcadores deben ser elegidos de acuerdo con el contexto clínico específico y deben ser utilizados como una herramienta complementaria, para reforzar la rutina diagnóstica clínica. Los biomarcadores no pueden determinar los microorganismos causales y los patrones asociados de sensibilidad a los antibióticos.

En relación a HMGB1, el cuál es un activador tardío de la cascada inflamatoria se ha especulado que podría ser un objetivo para el tratamiento antiinflamatorio de la sepsis grave y el choque séptico, sin embargo la asociación con la severidad de la sepsis se ha visto en modelos animales.<sup>6</sup>

En lo que respecta a Hsp70 no se ha podido establecer su valor como biomarcador en sepsis motivo por el cual se considero su determinación como parte de este estudio ya que en otro tipo de patologías se asociado a una evolución favorable.<sup>20</sup>

Considerándose el planteamiento realizado al inicio del estudio y en proporción a los resultados obtenidos, hasta el momento sigue sin lograrse establecer el comportamiento de Hsp-70 como

marcador pronóstico en pacientes sépticos, inicialmente destacando el incremento de los niveles en aquellos pacientes que no sobreviven. En el estudio realizado por Gelain et al<sup>12</sup> muestra que la proteína de choque térmico Hsp70 se ve afectada en varios niveles de estrés oxidativo, pero esta relación nunca ha sido estudiada en la sepsis. Analizando los parámetros oxidativos se reveló que los pacientes con mayor daño oxidativo pronunciado, se encontraban los niveles de Hsp 70 también aumentados en el suero al inicio del estudio, llegando en este momento a la conclusión de que los niveles séricos de Hsp70 son modulados de acuerdo con el estado del paciente lo cual podría ser aplicable con los resultados obtenidos en nuestro trabajo. Esto reafirma el desconocimiento del papel de Hsp70 en la regulación de la respuesta inflamatoria en el paciente séptico, a diferencia de lo observado en otras patologías.

En relación al diagnóstico inicial y los niveles de Hsp70 observamos una tendencia a la disminución de los niveles en las muestras de seguimiento, principalmente asociado a pacientes con choque séptico ante lo cual considerando la correlación clínica debemos plantear como posible etiología el predominio de la fase de SIRS en la respuesta inflamatoria e incluso mostrando una relación inversamente proporcional con los niveles de HMGB1 sin existir diferencia significativa incluso entre los 3 grupos manejados ( sepsis, sepsis severa, choque séptico) , lo cual puede estar asociado al mal pronóstico que muestran los pacientes con niveles elevados de HMGB1 en la fisiopatología de la sepsis.

Decidimos incluir la medición de SOFA y APACHE II como parte de las escalas clínicas pronósticas a valorar durante la estancia en UCI de las primeras 24 hrs, tomándose como valor basal en niveles de SOFA  $\geq 10$  puntos lo que corresponde a una mortalidad de más del 80%<sup>13</sup>, considerando que un incremento en el valor de SOFA independientemente de los niveles basales, durante las 48 horas iniciales de su estancia en UCI, representa una mortalidad mínima del 50%. En relación a APACHE II se maneja como nivel basal mayor o igual de 15 puntos, dado que en este límite se observa un incremento del 50% de la mortalidad en los grupos control que la escala valora ( quirúrgicos y no quirúrgicos) correspondiendo a una mortalidad del 12% y 25 % respectivamente<sup>14</sup>. Cabe destacar que el número de muestra de este estudio cursó con patología quirúrgica. Sin embargo estas escalas ignoran muchos factores que pueden influir en el pronóstico del paciente durante su estancia en la UCI.

Si bien el tamaño de muestra manejado para este trabajo es representativo, aun se lleva a cabo en la Unidad Médica de Inmunoquímica el análisis de la totalidad de la muestra obtenida a lo largo prácticamente de 1 año, esperando con el incremento de la misma exista establecer una calidad pronóstica a la medición de Hsp70 e incluso correlacionándose con las escalas clínicas valoradas.

Cabe destacar que durante la realización de esta investigación, se trabaja a la par la medición de las 6 principales citocinas observadas durante la sepsis, lo cual en un futuro nos permitirá

hacer una correlación clínica de la diferentes fases de la sepsis ( SRIS, CARS y MARS) y los principales marcadores moleculares obtenidos, no eliminando la posibilidad de que en base a los resultados, se pueda implementar la medición de ciertos marcadores como parte del abordaje en la Unidad de Cuidados Intensivos de los pacientes con sepsis y choque séptico e incluso permitir realizar una correlación con el tratamiento médico que se le otorga a estos pacientes ( usos de esteroides, antimicrobianos, etc).

Los resultados no demuestran la utilidad de Hsp70 como biomarcador de mal pronóstico en sepsis, sepsis grave y choque séptico. HMGB1 puede servir como marcador de mal pronóstico en los pacientes analizados, sin embargo, cuando se clasifican de acuerdo a gravedad de la enfermedad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

El número de pacientes si bien no son suficientes, este es un resultado parcial, aun faltando resultados por analizar, al igual que seguir buscando otros biomarcadores, más sensibles, más fáciles de determinar y más económicos que las pruebas de ELISA.

Nuestros resultados aunque son pre-eliminares, no nos orientan a la utilización de terapias dirigidas en la regulación de las concentraciones de ninguna de las dos moléculas.

El objetivo del estudio que es evaluar la estancia hospitalaria con respecto a las concentraciones de ambas moléculas, no se demostró.

## CONCLUSIONES

1. La molécula de HMGB1 se encuentra más elevada en el grupo de no sobrevivientes en relación a los sobrevivientes.
2. Se observa mayor elevación de Hsp70 en pacientes que no sobrevivieron en relación al grupo que sobrevivió.
3. Los niveles de Hsp70 no deberían elevarse en los pacientes que no sobrevivieron dado su papel anti inflamatoria debiendo regular la respuesta.
4. En los pacientes que sobrevivieron se mostro niveles iniciales bajos de Hsp70 e incluso con disminución progresiva durante el seguimiento, predominante en los pacientes con choque séptico, a diferencia de HMGB1 la cual se incremento en los pacientes con choque séptico a diferencia de sepsis grave.
5. Al clasificar a los pacientes por la escala de SOFA, se encontró que los niveles séricos de Hsp 70 y HMGB1 no determinan que haya diferencia entre los pacientes con menor o mayor a 10 puntos.
6. Se encontró la una relación proporcional de que aquellos pacientes que sobrevivieron a mayor puntuación de la escala de SOFA teniendo una estancia intrahospitalaria más prologada a diferencia de los pacientes que no sobrevivieron donde muestra una relación inversa a mayor SOFA menor estancia intrahospitalaria.
7. Se encontraron niveles elevados de Hsp70 en la primera muestra, correlacionando con mayores días de estancia intrahospitalaria.

## ANEXOS.

### Anexo 1. Criterios diagnósticos de Sepsis.

---

Variables generales	Fiebre (>38.3°C) Hipotermia (<36°C) Frecuencia cardiaca >90 latidos/min Frecuencia respiratoria >20/min Alteraciones neurológicas Edema significativo Glucosa plasmática >120 mg/dl en ausencia de diabetes
Variables inflamatorias	Leucocitosis (Cuenta de leucocitos >12,000/mm <sup>3</sup> ) Leucopenia (Cuenta de leucocitos <4000/mm <sup>3</sup> ) Cuenta de leucocitos normal con >10% de formas inmaduras Proteína C reactiva en plasma >2 desviaciones estándar sobre el valor normal Procalcitonina en plasma >2 desviaciones estándar sobre el valor normal
Variables hemodinámicas	Hipotensión arterial Saturación de oxígeno en sangre venosa mixta >70% Índice cardiaco >3.5 l/min/m <sup>2</sup>
Variables asociadas a disfunción orgánica	Hipoxemia arterial Oliguria <0.5 ml/kg/h durante al menos 2h) Creatinina sérica >0.5 mg/dl a Anormalidades en la coagulación (Tiempo de tromboplastina parcial activada >60 s) Íleo (Ausencia de sonidos intestinales) Bilirrubina total en plasma >4 mg/dl Trombocitopenia (<100,000/mm <sup>3</sup> )
Variables asociadas a perfusión tisular	a Lactato sérico >1 mmol/l Retardo en el relleno capilar

---

## Anexo 2. Hoja recolección de datos del paciente

**Instituto Mexicano del Seguro Social  
Hospital de Especialidades, CMN SXXI.  
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.**

Hoja de Recolección de datos del Proyecto: Caracterización del comportamiento molecular de mediadores inflamatorios en pacientes con Sepsis.

### Datos generales (rellenar o circular)

Nombre			No. de Pac.		Iniciales		
Filiación			Edad		Sexo	M	F
Persona Sana	SI	NO	Fecha de captura del paciente				
Patología	Benigna	Maligna	Peso		Talla		
Diagnóstico							
Fecha de inicio del padecimiento que motivó su internamiento							
Días de Estancia Hospitalaria antes de su ingreso al proyecto							
Fecha de muestras	1 <sup>a</sup>		2 <sup>a</sup>				
4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>		6 <sup>a</sup>		7 <sup>a</sup>		

### Comorbilidad (Palomear y rellenar en su caso)

Diabetes Mellitus		Cardiopatía Isquémica	
Hipertensión		Cirrosis	
Insuficiencia Renal C		Insuficiencia Renal Aguda	
Alergias		Otras	

### Sepsis (Rellenar y palomear en su caso)

Fecha Inicio		Evolución (días)		
Sepsis		Sepsis Grave		Choque Séptico
Cultivos	SI	NO		

Cultivo	Fecha	Organismos aislados	Comentario
Hemocultivo			
Urocultivo			
Punta de catéter			
Lavado bronquial			



### **Anexo 3 . CONSENTIMIENTO INFORMADO.**

**Lugar y Fecha:** Servicio Medicina Critica y Terapia Intensiva, Hospital de Especialidades CMN SXXI, Ciudad de México,      a      del mes      año     

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:  
**Medición de Hsp70 y HMGB1 y su correlación con los días de estancia hospitalaria en pacientes con sepsis grave y choque séptico temprano en la Unidad de Cuidados Intensivos y Medicina Critica y la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica, del Hospital de Especialidades “ Bernardo Sepúlveda Gutiérrez” del Instituto Mexicano del Seguro Social.**

Registrado ante el Comité Local de Investigación en Salud o La Comisión Nacional de Investigación Científica con el Número:                     R-2012-3601-89    

El objetivo del Estudio es:

Analizar los fenotipos de las subpoblaciones de monocitos periféricos en pacientes con sepsis, para determinar si existen diferencias con respecto a la presencia de SIRS o CARS, así como cuantificar en estos pacientes los mediadores solubles séricos sTREM-1, Hsp70, HMGB1, procalcitonina y citocinas.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en:

Si decido participar ocurrirá lo siguiente:

- a) Se le explicará claramente en qué consiste su participación y se le preguntará si acepta de forma voluntaria formar parte del estudio
- b) Toma de muestras biológicas. Tomaremos una muestra de sangre venosa de uno de sus brazos, aproximadamente 5 cucharaditas de su sangre, para realizarle algunos estudios de laboratorio. Nos tardaremos aproximadamente 10 minutos o menos en tomarle la muestra de sangre. Los estudios que le realizaremos incluyen: cuantificación de sTREM-1, Hsp70, HMGB1, procalcitonina, citocinas y caracterización de subpoblaciones de monocitos.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de la participación de mi familiar o representado en el estudio, que son los siguientes:

Las molestias durante la toma de muestra de sangre son mínimas. En algunas ocasiones el procedimiento para tomarle una muestra de sangre puede causar un poco de dolor o una discreta molestia, es posible que se le pueda formar un moretón. En algunas ocasiones se evitará lo anterior tomando la muestra de un catéter subclavio que previamente los médicos especialistas del servicio tratante, le colocarán como parte de su tratamiento médico.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio.

Si bien los beneficios directos para usted pudieran no existir, los resultados del presente estudio contribuirán al avance en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis o los resultados de este estudio brindarán información relevante para el mejor manejo de personas como usted; o brindará información de gran utilidad para futuros programas de tratamiento para pacientes con problemas relacionados.

El investigador responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mí tratamiento (en su caso), 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 o con mi tratamiento (en su caso).

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.

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. 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.

---

Nombre y Firma del Participante

Nombre, Firma, Matrícula del Investigador

---

Datos de contacto del Participante y/o Responsable (dirección y teléfonos)

---

Nombre y Firma persona que obtuvo el consentimiento informado.

Número (s) telefónico(s) al (los) cual(es) puede comunicarse en caso de presentarse emergencias, dudas o preguntas relacionadas con el estudio: 9:00 a 16:00 hrs, de lunes a viernes a los teléfonos: 56276915, en la Unidad de Cuidados Intensivos ubicada en el primer piso del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

---

Nombre y Firma del Testigo (Parentesco con participante y Fecha)

---

Nombre y Firma del Testigo (Parentesco con participante y Fecha)



## BIBLIOGRAFIA.

1. Rami, N. M., Ruben, Z.Ph., Rajaie, N.M., Gary A., John, D. Ph., Thomas, E.D. et. Al. Sepsis: Something old, something new, and a systems view. *Journal of Critical Care* 2011; 25:1-8.
2. Sánchez R., Sanz J, Prieto M, et al. Balance entre citocinas pro y antiinflamatorias en estados sépticos. *Medicina Intensiva* 2005;29 (3) 151-8.
3. Adrie, C., and Pinsky, M.R. The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive Care Med* 2000; 26, 364-375.
4. McConnell, K.W., Fox, A.C., Clark, A.T., Chang, N.Y., Dominguez, J.A., et. Al. The role of heat shock protein 70 in mediating age-dependent mortality in sepsis. *The Journal of Immunology*. 2011; 186, 3718-3725.
5. Ferat O. E. Manuscrito en redacción
6. Karlsson S., Ville P., Tenhunen J., Hynninen M., Ruokonen E. HMBG1 as a predictor of organ dysfunction and outcome in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med*. 2008; 134: 1032-9 .
7. García, B. P. Inflamación. *Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp)* 2008;Vol. 102 Nº. 1, 91-159.
8. Palencia E. Epidemiología de la sepsis. *REMI* 2004;4(7):C1. <http://remi.uninet.edu/2004/07/REMICO1b.htm>.,
9. Dellinger, R.P., Levy, M.M., Carlet, J.M., Bion, J., Parker, M.M., Brun-Buisson, C.,Beale, R., et al. Surviving Sepsis Campaign : International Guidelines for Management of sever sepsis and septic shock :2008. *Crit Care Med* 2008; 36,296-327.
10. Charalampos P. Vincent J.L. Sepsis biomarkers: a review. *Critical Care* 2010, 14:R15.
11. Meisner, M. Biomarkers of sepsis: clinically useful?. *Curr Opin Crit Care* 2005;11, 473-480.
12. Gelain D.P, de Bittencourt P, Cumin C; et al. Shock Protein 70 levels oxidant status and mortality in sepsis. *Shock* 2011 May;35 (5): 466-70
13. Ferreira L. F, Bross A., Vincent JL MD. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *Jama* 2001;286:1754-1758
14. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE.APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13:818-829.
15. Njemini,R., Bautman, I.,Onyema,O.O., Van Puyelde, K.,Deminet, C., Mets,T; Circulation Heat Shock Protein 70 in Health Aging and Disease. *BMC Immunology* 2011;12:24.
16. Bone, R.C. (1996). Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med* 24, 1125-1128.
17. Fiorentino, S., Barreto, A., Asea, A., Proteínas de Choque térmico, Muerte celular y Respuesta Tumoral. *Revista de la Facultad de Ciencias* 2007: Vol. 12 Nº 2, 5-22.

18. Huang, W., Tang, Y., and Li, L. HMGB1, a potent proinflammatory cytokine in sepsis. *Cytokine* 51, 119-126.
19. Roger C. Bone, Charles J. Grodzin and Robert A. Balk. Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. *Chest* 1997;112;235-243.
20. Astro K, Villas D. Heat Shok proteins in pancreatic diseases. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. Vol.23:51; 42-45
21. Urbonaviciute V.,Furnrohr G., Weber C., et. Al. Factors making HMGB1 in human serum and plasma. *Journal of Leukocyte Biology*. 2007:87,67-73.
22. Cabrera,R.A., Laguna, H.G., Lopez, H.G.,Villagomez,A.O, Mendez, R.R., et al. Mecanismos patogenicos en sepsis y choque septico. *Med. Int.Mex*. 2008;24(21)36-42.