

# VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

**FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA**

**Programa de Doctorado en Fisiología**



## **ESTUDIO DE LOS MARCADORES DE SEVERIDAD EN LA SEPSIS GRAVE Y SHOCK SÉPTICO**

TESIS DOCTORAL presentada por:

Dña MARIA LIDÓN MATEU CAMPOS

Dirigida por:

Dr Juan Sastre Belloch

Dra M<sup>a</sup> Desamparados Ferrándiz Sellés

Dra Inmaculada M. García Navarro

Valencia, 2014



FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

**Prof. Dr Juan Sastre Belloch**, Catedrático del Departamento de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia

**Dra M<sup>a</sup> Desamparados Ferrándiz Sellés**, Jefe de Servicio de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital General Universitario de Castellón

**Dra Inmaculada M. García Navarro**, Médico Adjunto del Servicio de Hematología del Hospital Arnau de Vilanova de Valencia

CERTIFICAN:

Que Dña M<sup>a</sup> Lidón Mateu Campos, Licenciada en Medicina y Cirugía por la Universidad de Valencia, ha realizado bajo su dirección la presente tesis titulada:

**“ESTUDIO DE LOS MARCADORES DE SEVERIDAD  
EN LA SEPSIS GRAVE Y SHOCK SÉPTICO”**

para la obtención del título de Doctora en Medicina

Y para que conste a los efectos oportunos, firman la presente certificación.

Valencia, 9 de diciembre de 2014

Dr Juan Sastre Belloch

Dra M<sup>a</sup> Desamparados  
Ferrándiz Sellés

Dra Inmaculada García  
Navarro

A mis padres  
Federico y Tere-Mari,



## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es el resultado de muchos años de dedicación, desde que inicialmente planteé el proyecto, hasta el momento en que los resultados empezaron a ver la luz y finalmente las conclusiones quedaron plasmados en estas hojas. Durante todo este tiempo, he contado con personas que me han ayudado, me han aconsejado y han colaborado conmigo, algunas de ellas ya conocidas y otras a las que he tenido la suerte de conocer a lo largo de estos años y cuya ayuda ha sido fundamental para poder llevar a cabo este trabajo. Es por ello que mi agradecimiento va dirigido de corazón a todas estas personas.

Quiero expresar mi agradecimiento en primer lugar a mis directores de tesis:

Al Dr Juan Sastre, por su dedicación, por su paciencia, su amabilidad y sus consejos y ánimos constantes para que este trabajo llegara a su fin. Ha sido un honor para mí contar con él como director en este trabajo y espero poder seguir trabajando con él en este campo.

A mi jefa y amiga la Dra Amparo Ferrándiz, por enseñarme tanto a lo largo de estos años, por apoyarme en todos mis proyectos y en éste en especial. Por su amabilidad y todo su cariño.

A la Dra Inmaculada García, por su apoyo constante y colaboración en el estudio. Por las sugerencias en el planteamiento del proyecto y por su gran ayuda para conseguir el procesamiento final de las muestras.

A “todos” mis compañeros del Servicio de Medicina Intensiva, por su cariño y apoyo, en especial a Ángel Heras y Elena Bisbal; a Bárbara Vidal por estar siempre tan pendiente de todo, por su predisposición y por su ayuda en la inclusión de los pacientes; a Susana Altaba, por la colaboración en la preparación de las muestras y su sonrisa cada día. A todos mis residentes por sus ánimos. Al Dr Ricardo Abizanda, por permitirme iniciar este proyecto en el servicio y facilitarme la ayuda necesaria.

Un agradecimiento muy especial al Dr Alberto Belenguer, amigo y compañero, por estar siempre cuando lo he necesitado y apoyarme durante todo este proyecto, por sus consejos y su ayuda incondicional. Gracias.

Al equipo de enfermería y auxiliares de la unidad, por su colaboración en la monitorización del paciente y en la extracción de las muestras sanguíneas, sin importar la hora que fuese aunque les supusiera una sobrecarga de trabajo.

Al equipo del Laboratorio de Hematología, por haberme permitido trabajar en su laboratorio, por enseñarme a procesar las muestras del estudio y, en especial a Doña Amparo Pascual, por toda la ayuda prestada y su dedicación en la determinación de las muestras de la coagulación.

Al Dr Salvador Pérez del departamento de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia, por su cooperación en el procesamiento de las muestras de estrés oxidativo y por facilitarme toda la

información necesaria para comprender mejor el análisis de las muestras, una parte desconocida para mí y por sus ánimos constantes.

A la Dra M<sup>a</sup> Dolores La Torre, a la cual conocí mientras buscaba una colaboración para el análisis de las citoquinas, y me brindó su ayuda y todo su apoyo para obtener los resultados que ahora presento.

A la Dra M<sup>a</sup> Victoria Ibáñez, por compartir sus conocimientos de estadística conmigo, por sus consejos, sus atenciones y por conseguir que la etapa final de este trabajo cogiera la forma esperada.

Una suerte y un placer haberlos conocido.

Y como no, a mi marido Fernando por todos estos años juntos, por todo su amor, su apoyo y por comprender lo importante que era para mí este proyecto, y a mis hijos Carlos y Lidón, la luz de mi vida, porque el tiempo empleado en este trabajo era para ellos..

Y a mi hermana Tere-Mari, siempre a mi lado, por poder contar con ella en todo momento y saber que está ahí. Y a toda mi familia y amigos, siempre pendientes de que este trabajo saliera adelante, por sus palabras de ánimo y muestras de cariño cuando más lo necesitaba.

# ÍNDICE GENERAL





---

## Índice general

---

1. INTRODUCCIÓN .....	1
I.- RESEÑA HISTÓRICA .....	3
II.- DEFINICIONES DE SEPSIS Y FALLO MULTIORGÁNICO .....	3
III.- LA SEPSIS COMO RESPUESTA ORGÁNICA A LA INVASIÓN INFECCIOSA .....	9
2.- Respuesta del huésped a la infección .....	13
2.1.2.- Citoquinas .....	15
2.1.3.- Mediadores lipídicos .....	21
2.1.4.- Especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo .....	21
2.1.4.1.- Fuentes de radicales libres .....	24
2.1.4.2.- Indicadores de estrés oxidativo .....	26
2.1.4.3.- Estrés oxidativo en la sepsis grave y el shock séptico .....	29
2.2.- Coagulación en la sepsis .....	31
2.2.1.- Alteraciones de la coagulación en la sepsis .....	33
2.2.1.1.- Aumento de la activación de la coagulación .....	33
2.2.1.2.- Consumo de los mecanismos inhibidores de la coagulación .....	35
2.2.1.3.- Bloqueo del sistema fibrinolítico .....	38

2.2.1.4.- Disfunción plaquetaria por diversos mecanismos .....	39
2.2.2.- Marcadores de la coagulación en la sepsis grave y shock séptico.....	39
2.2.3.- Homocisteína en la sepsis grave.....	43
IV.- LA OXIGENACIÓN TISULAR EN LA SEPSIS .....	47
1.- Manifestaciones clínicas de las alteraciones de la microcirculación en la sepsis severa.....	48
1.1.- Saturación venosa de oxígeno .....	51
1.2.- Significado de hiperlactacidemia.....	52
V.- SEPSIS Y DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA.....	54
1.- Disfunción miocárdica en la sepsis grave. valoración de la función cardíaca .....	55
1.1.- Mecanismos de disfunción miocárdica en la sepsis .....	56
1.2.- Monitorización de la función cardíaca y estabilización hemodinámica en la sepsis .....	59
VI- MARCADORES DE GRAVEDAD Y PRONÓSTICO EN LA SEPSIS .....	61
1.- Proteína C reactiva.....	62
2.- Procalcitonina. ....	63

---

## Índice general

---

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	65
1.- HIPÓTESIS .....	67
2.- OBJETIVOS.....	67
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	69
1.- Ámbito del estudio.....	71
2.- Sujetos objeto de estudio .....	71
2.1- Pacientes enfermos .....	71
2.2- Pacientes control.....	72
2.3- Criterios de exclusión .....	72
3.- Tamaño de la muestra y tipo de muestreo .....	72
4.- Consentimiento informado .....	73
5.- Sistemática de trabajo.....	74
5.1.- Protocolo al ingreso.....	74
5.2.- Implantación de catéteres .....	75
5.3.- Monitorización hemodinámica .....	75
5.3.1.- Parámetros de monitorización mediante sistema arterial .....	76

5.3.2.- Parámetros de monitorización mediante sistema venoso .....	76
5.3.3.- Parámetros obtenidos mediante el sistema PiCCO®.....	76
5.4.- Manejo terapéutico del paciente séptico.....	78
5.5.- Variables estudiadas .....	79
5.6.- Obtención de muestras y procesamiento: .....	79
5.6.1.- Protocolo de recogida de las muestras y preparación para su procesamiento .....	79
5.6.2.- Procesamiento de las muestras y determinaciones bioquímicas .....	80
5.6.2.1.- Técnicas de procesamiento de las muestras .....	80
5.6.2.2.- Análisis de las muestras .....	81
6.- Análisis estadístico de los resultados .....	80
4. RESULTADOS .....	91
A.- Descripción de los grupos: Grupo de enfermos y grupo control .....	93
A.1.- Estudio descriptivo de los pacientes con con sepsis grave y shock séptico .....	93
A.2.- Estudio descriptivo del grupo control.....	98
B.- Comparación entre el grupo de enfermos en el momento de inclusión en el estudio y el grupo control.....	99

---

## Índice general

---

C.- Estudio de la mortalidad en el grupo de enfermos.....	108
D.- Marcadores de inflamación en la sepsis .....	116
D.1.- Comparación casos y controles .....	116
D.2.- Parámetros de inflamación y mortalidad en el grupo de enfermos ...	116
D.3.- Evolución de las citoquinas y mortalidad.....	119
E.- Marcadores de coagulación en la sepsis.....	124
E.1.- Comparación de casos y controles .....	124
E.2.- Grupo de enfermos.....	126
E.2.1.- Plaquetas .....	126
E.2.2.- Diagnóstico de CID.....	126
E.2.3.- Parámetros de coagulación y mortalidad en el grupo de enfermos.	127
E.3.- Evolución de los diferentes parámetros de coagulación y su relación con la mortalidad.....	132
F.- Marcadores de estrés oxidativo en la sepsis.....	141
F.1.- Comparación de casos y controles .....	141
F.2.- Marcadores de estrés oxidativo y mortalidad en el grupo de enfermos .....	142

F.3.- Evolución de los marcadores de estrés oxidativo y mortalidad en el grupo de enfermos.....	146
G.- Correlación entre los distintos marcadores y los scores de gravedad...	151
G.1.- Marcadores de coagulación .....	152
G.2.- Marcadores de inflamación.....	152
G.3.- Marcadores de estrés oxidativo .....	153
H.- Correlación de marcadores de inflamación con parámetros clínicos en el grupo de pacientes sépticos.....	153
H.1.- Disfunción hemodinámica .....	153
H.2.- Disfunción renal.....	154
H.3.- Marcadores de inflamación y procalcitonina.....	154
I.- Correlación de marcadores de coagulación con parámetros clínicos en el grupo de pacientes sépticos.....	155
I.1.- Marcadores de perfusión tisular y procalcitonina .....	155
I.2.- Agregación plaquetar y número de plaquetas .....	156
J.- Correlación entre marcadores de inflamación y coagulación .....	156
K.- Correlación entre los marcadores de estrés oxidativo con parámetros clínicos y resto de marcadores .....	157
K.1.- Estrés oxidativo y marcadores de perfusión tisular .....	157

---

## Índice general

---

K.2.- Estrés oxidativo y disfunción hemodinámica y renal .....	158
K.2.1.- Disfunción cardiaca .....	158
K.2.2.- Disfunción renal.....	159
K.3.- Estrés oxidativo y marcadores de inflamación y coagulación.....	159
L.- Homocisteína.....	160
L.1.- Correlación entre niveles de homocisteína y el estado nutricional ....	160
L.2.- Correlación entre niveles de homocisteína y los marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo .....	160
M.- Estudio de los diferentes parámetros en aquellos pacientes sometidos a técnicas de depuración renal continuas.....	161
M.1.- Comparación entre los diferentes parámetros en el momento de la inclusión en el estudio en aquellos pacientes en los que se instauraron técnicas de depuración renal al ingreso .....	162
M.2.- Comparación entre los diferentes parámetros a las 48 horas en aquellos pacientes en los que se instauraron técnicas de depuración renal las 24 horas previas .....	163
M.3.- Análisis de la mortalidad en pacientes sometidos a técnicas de depuración renal continuas .....	167
N.- Análisis de los valores perdidos .....	168



5. DISCUSIÓN .....	171
6. CONCLUSIONES .....	201
7. BIBLIOGRAFÍA .....	205
8. ANEXOS	
8.1.- Anexo 1	
Hoja de información al paciente y consentimiento informado .....	231
8.2.- Anexo 2	
Autorización del paciente o de su familia.....	234

# ÍNDICE DE TABLAS



## 1.- INTRODUCCIÓN

Tabla I.1.- Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y condiciones afines. 1992 ACCP/SCCM Consensus Conference Committee.....	5
Tabla I.2.- Disfunción y fallor orgánico. Definiciones.....	6
Tabla I.3.- Causas de SIRS .....	7
Tabla I.4.- Criterios para el diagnóstico de sepsis .....	8
Tabla I.5.- Principales inductores de la sepsis .....	13
Tabla I.6.- Principales mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios.....	15
Tabla I.7.- Citoquinas y sus principales efectos .....	16
Tabla I.8.- Sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos .....	24
Tabla I.9.- Biomarcadores de estrés oxidativo.....	24
Tabla I.10.- SSC/ISTH Score para CID declarada .....	24
Tabla I.11.- SOFA score .....	56
Tabla I.12.- Valores normales de los parámetros de monitorización del sistema PiCCO® .....	60

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### Tabla MM.1.- Variables estudiadas

Tabla MM.1.1a.- Parámetros de coagulación y homocisteína..... 88

Tabla MM.1.1b.- Parámetros de inflamación y estrés oxidativo..... 89

### 4. RESULTADOS

Tabla R.1.- Gravedad de los pacientes mediante los tres scores de gravedad: APACHE III, SAPS 3 y SOFA..... 95

Tabla R.2.- Situación hemodinámica tras la monitorización con el sistema PiCCO®, la función respiratoria con gasometría arterial, parámetros de perfusión tisular y marcadores de sepsis como la procalcitonina del grupo sepsis..... 96

Tabla R.3.- Parámetros de laboratorio referentes a la función renal, hepática, perfusión tisular, reactantes de fase aguda y parámetros de hemograma y coagulación del grupo sepsis ..... 97

Tabla R.4.- Parámetros de laboratorio referentes a la función renal, hepática, perfusión tisular, reactantes de fase aguda y parámetros de hemograma y coagulación del grupo control..... 98

Tabla R.5.- Características basales de ambos grupos en el momento de inclusión en el estudio..... 101

---

## Índice de tablas

---

Tabla R.6.- Diferencias en los parámetros hemodinámicos, respiratorios y marcadores de inflamación entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos a las 24 horas .....	109
Tabla R.7.- Diferencias en los scores de gravedad utilizados entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven .....	114
Tabla R.8.- Diferencias en los valores de citoquinas entre el grupo de enfermos y el grupo control .....	116
Tabla R.9.- Comparación de los valores de citoquinas entre los enfermos que fallecen y los que sobreviven.....	117
Tabla R.10.- Comparación de los parámetros de coagulación entre los grupos a estudio, enfermos y grupo control.....	125
Tabla R.11.- Relación CID y mortalidad.....	126
Tabla R.12.- Comparación de los parámetros de coagulación en el momento de inclusión al estudio entre los pacientes que vivían y aquellos que fallecían .....	127
Tabla R.13.- Comparación de los niveles de MDA entre el grupo control y el grupo de enfermos en cada uno de los diferentes tiempos del estudio .....	141
Tabla R.14.- Comparación de los niveles de XO entre el grupo control y el grupo de enfermos en cada uno de los diferentes tiempos del estudio .....	142
Tabla R.15.- Comparación de los niveles de glutatión en sus dos forma, oxidado y reducido, y el cociente GSSG/GSH entre el grupo control y el grupo de enfermos.....	142

Tabla R.16.- Niveles de MDA en el grupo de enfermos que sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control .....	143
Tabla R.17.- Actividad XO en el grupo de enfermos que sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control .....	143
Tabla R.18.- Niveles de glutatión en sus formas oxidada y reducida, y cociente GSSG/GSH en el grupo de enfermos que sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control .....	144
Tabla R.19.- Niveles de MDA en los diferentes tiempos en el grupo de enfermos que no sobreviven y comparación con el grupo control .....	144
Tabla R.20.- Actividad XO en los diferentes tiempos en el grupo de enfermos que no sobreviven y comparación con el grupo control .....	144
Tabla R.21.- Niveles de glutatión en sus formas oxidada y reducida, y cociente GSSG/GSH en el grupo de enfermos que no sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control .....	145
Tabla R.22.- Comparación de los niveles de MDA en los diferentes tiempos en los pacientes que viven y los que fallecen .....	145
Tabla R.23.- Comparación de los niveles de XO en los diferentes tiempos en los pacientes que viven y los que fallecen .....	145
Tabla R.24.- Comparación de los niveles de glutatión en sus formas oxidada y reducida, y cociente GSSG/GSH en los diferentes tiempos en los pacientes que viven y los que fallecen.....	146
Tabla R.25.- Correlación de los niveles de anticoagulantes naturales con scores de gravedad .....	152

Tabla R.26.- Correlación de los niveles de citoquinas y los scores de gravedad.....	152
Tabla R.27.- Correlación de los niveles de parámetros de estrés oxidativo y los scores de gravedad .....	153
Tabla R.28.- Correlación de las citoquinas con parámetros de función cardíaca .....	153
Tabla R.29.- Correlación de las citoquinas con parámetros de función renal .....	154
Tabla R.30.- Correlación de los niveles de las citoquinas con parámetros de perfusión tisular, inflamación y procalcitonina .....	154
Tabla R.31.- Correlación de los anticoagulantes y el factor XII con parámetros de inflamación, perfusión tisular y procalcitonina.....	155
Tabla R.32.- Correlación entre la agregación inducida por col/ADP y col EPI y el número de plaquetas.....	156
Tabla R.33.- Correlación de los marcadores de coagulación y los marcadores de inflamación.....	157
Tabla R.34.- Correlación de los anticoagulantes naturales entre si y con la homocisteína .....	157
Tabla R.35.- Correlación de los marcadores de estrés oxidativo con parámetros de inflamación, perfusión tisular y procalcitonina.....	158



Tabla R.36.- Correlación entre los parámetros de estrés oxidativo y la disfunción miocárdica.....	158
Tabla R.37.- Correlación entre los parámetros de estrés oxidativo y la disfunción renal.....	159
Tabla R.38.- Correlación de los marcadores de estrés oxidativo con los marcadores de coagulación y las citoquinas .....	159
Tabla R.39.- Relación de los niveles de homocisteína con la vitamina B12 y el ácido fólico.....	160
Tabla R.40.- Relación de los niveles de homocisteína con los marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo .....	161
Tabla R.41.- Diferencias entre los parámetros de coagulación en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC .....	162
Tabla R.42.- Diferencias entre los parámetros de inflamación en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC .....	163
Tabla R.43.- Diferencias entre los parámetros de estrés oxidativo en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC .....	163
Tabla R.44.- Diferencias entre PCR, procalcitonina, láctico y BNP a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC.....	164
Tabla R.45.- Diferencias entre los parámetros de coagulación a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC .....	165
Tabla R.46.- Diferencias entre los parámetros de inflamación a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC .....	166

Tabla R.47.- Diferencias entre los parámetros de estrés oxidativo a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC.....	167
Tabla R.48.- Análisis de la mortalidad en pacientes sépticos sometidos a TDRC .....	167
Tabla R.49.- Resumen de medias estimadas de los parámetros de coagulación en relación a la mortalidad.....	168
Tabla R.50.- Resumen de medias estimadas de los parámetros de coagulación en relación a las TDRC.....	168
Tabla R.51.- Resumen de medias estimadas de los parámetros de inflamación en relación a la mortalidad.....	169
Tabla R.52.- Resumen de medias estimadas de los parámetros de inflamación en relación a las TDRC .....	169
Tabla R.53.- Resumen de medias estimadas de las variables de estrés oxidativo en relación a la mortalidad.....	169
Tabla R.54.- Resumen de medias estimadas de las variables de estrés oxidativo en relación a las TDRC.....	169



# ÍNDICE DE FIGURAS

-----



## 1.- INTRODUCCIÓN

Figura I.1.- Respuesta del huésped en la sepsis severa.....	11
Figura I.2.- Activación de la respuesta inflamatoria.....	14
Figura I.3.- Mediadores de la inflamación.....	17
Figura I.4.- Producción de especies reactivas de oxígeno durante la enfermedad crítica.....	25
Figura I.5.- Fracaso orgánico y disfunción del endotelio vascular y la mitocondria en la sepsis grave .....	32
Figura I.6.- Representación de la activación de la coagulación durante la respuesta inflamatoria sistémica .....	34

## 4. RESULTADOS

Figura R.1.- Origen de la sepsis.....	94
Figura R.2.- Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de función renal del grupo control y del grupo de enfermos .....	102
Figura R.3.- Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de función hepática del grupo control y del grupo de enfermos.....	103
Figura R.4.- Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de PCR, lactato y BNP del grupo control y del grupo de enfermos .....	104

Figura R.5.- Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de hematocrito y número de plaquetas del grupo control y del grupo de enfermos.....	105
Figura R.6.- Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de coagulación del grupo control y del grupo de enfermos .....	106
Figura R.7.- Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de vitamina B <sub>12</sub> y ácido fólico del grupo control y del grupo de enfermos.....	107
Figura R.8.- Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros hemodinámicos a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos.....	110
Figura R.9.- Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de perfusión tisular a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos .....	111
Figura R.10.- Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de función cardíaca a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos.....	112
Figura R.11.- Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de oxigenación a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos.....	113
Figura R.12.- Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de procalcitonina y BNP a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos.....	113

---

## Índice de figuras

---

Figura R.13.- Representación mediante diagramas de cajas de los scores de gravedad para aquellos pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos.....	115
Figura R.14.- Representación mediante diagramas de cajas de los valores de IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ entre los pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos.....	118
Figura R.15.- Representación mediante diagramas de cajas de los valores de IL-10 e IL-10/TNF- $\alpha$ entre los pacientes que sobreviven y los que fallecen del grupo de enfermos.....	119
Figura R.16.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de IL-6 en el grupo de enfermos.....	120
Figura R.17.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de IL-8 en el grupo de enfermos.....	121
Figura R.18.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de IL-10 en el grupo de enfermos.....	122
Figura R.19.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de TNF- $\alpha$ en el grupo de enfermos.....	123
Figura R.20.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de IL-10/TNF- $\alpha$ en el grupo de enfermos .....	124
Figura R.21.- Representación mediante diagramas de cajas de los valores de anticoagulantes naturales comparando los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos .....	128



Figura R.22.- Representación mediante diagramas de cajas de los valores de homocisteína comparando los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos.....	129
Figura R.23.- Representación mediante diagramas de cajas de los valores de los factores de coagulación II y VII comparando los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos.....	130
Figura R.24.- Representación mediante diagramas de cajas de los valores de los factores de coagulación VIII y XII comparando los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos .....	131
Figura R.25.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de Proteína C en el grupo de enfermos.....	134
Figura R.26.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de Proteína S a lo largo del tiempo del estudio .....	135
Figura R.27.- Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de Antitrombina III a lo largo del tiempo del estudio .....	136
Figura R.28.- Evolución en el tiempo de las medias del factor de coagulación II a lo largo de la evolución .....	137
Figura R.29.- Evolución en el tiempo de las medias del factor de coagulación VII a lo largo de la evolución .....	138
Figura R.30.- Evolución en el tiempo de las medias del factor de coagulación VIII a lo largo de la evolución.....	139
Figura R.31.- Evolución en el tiempo de las medias del factor de coagulación XII a lo largo de la evolución .....	140

---

## Índice de figuras

---

Figura R.32.- Evolución de las medias de la actividad xantina oxidasa a lo largo del tiempo de estudio .....	147
Figura R.33.- Evolución de las medias de los niveles de malondialdehído a lo largo del tiempo de estudio .....	148
Figura R.34.- Evolución de las medias de los niveles de glutatión oxidado a lo largo del tiempo de estudio .....	149
Figura R.35.- Evolución de las medias de los niveles de glutatión reducido a lo largo del tiempo de estudio .....	150
Figura R.36.- Evolución de las medias de los niveles del cociente GSSG/GSH a lo largo del tiempo de estudio.....	151



# **ABREVIATURAS**

-----



---

## Abreviaturas

---

ACCP: American College of Chest Physicians

SCCM: Society of Critical Care Medicine

SIRS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation)

SAPS: Simplified Acute Organ Failure Assessment

SOFA: Sequential Organ Failure Assessment

BGN: Bacilos gram negativos

lpm: latidos por minuto

SDRA: Síndrome de distrés respiratorio del adulto

PEEP: Presión positiva al final de la expiración

TTPA: Tiempo de tromboplastina parcial activada

CID: Coagulación intravascular diseminada

IAM: Infarto agudo de miocardio

TEP: Tromboembolismo pulmonar

LES: Lupus eritematoso sistémico

PAN: Panarteritis nodosa

AAS: Ácido acetil salicílico

PAS: Presión arterial sistólica

PAM: Presión arterial media

DS: desviación estándar

INR: International normalized ratio

ON: Óxido nítrico

TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral

IFN- $\gamma$ : Interferón gamma

CARS: Síndrome de respuesta antiinflamatoria compensada

LPS: Lipopolisacárido

PCR: Proteína C reactiva

DD: Dímero-D

PAF: Factor activador de plaquetas

ERO: Especies reactivas de oxígeno

EO: Estrés oxidativo

ADN:

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de hidrógeno

OH: radical hidroxilo

ERN: Especies reactivas de nitrógeno

ONNO: Peroxinitrito

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de hidrógeno

O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Anión superóxido

SOD: Superóxido dismutasa

GSH-Px: Glutation peroxidada

GSH: Glutation reducido

-----

---

## Abreviaturas

---

GSSG: Glutación disulfuro (oxidado)

NF- $\kappa$ B: Factor nuclear K

TBARS: Sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico

CAT: Capacidad antioxidante total

MDA: Malondialdehído

XDH: Xantina deshidrogenasa

XO: Xantina oxidasa

XOR: Xantina oxidasa reductasa

BAL: Lavado broncoalveolar

FT: Factor tisular

PAI: Inhibidor del activador del plasminógeno

AT III: Antitrombina III

PC: Proteína C

TFPI: Inhibidor de la vía del factor tisular

PGI-2: Prostaciclina

AT: Antitrombina

PC: Proteína C

PCA: Proteína C activada

PS: Proteína S

EPCR: Receptor endotelial de proteína C

TAFI: Inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina

-----



PS: Proteína S

t-PA: Activador tisular del plasminógeno

PDF: Productos de degradación de la fibrina

PAP: Complejos plasmita-antiplasmina

TP: Tiempo de protrombina

SSC/ISTH: Scientific Subcommittee on DIC of the International Society on Thrombosis and Haemostasis

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

HCY: Homocisteína

EO<sub>2</sub>: Extracción de oxígeno

PpO<sub>2</sub>: Presión parcial de oxígeno

pO<sub>2</sub>: Presión parcial de oxígeno

iNOS: Óxido nítrico sintetasa inducible

MMDS: Depresión mitocondrial

GDO<sub>2</sub>: Aporte de oxígeno al intestino

TA: Tensión arterial

SvO<sub>2</sub>: Saturación venosa mixta de oxígeno

SaO<sub>2</sub>: Saturación arterial de oxígeno

Hb: Hemoglobina

GC: Gasto cardiaco

VO<sub>2</sub>: Consumo de oxígeno

-----

---

## Abreviaturas

---

BNP: Péptido natriurético-B

VI: Ventrículo izquierdo

NT-pro-BNP: Fracción N-terminal del BNP.

IC: Índice cardiaco

IRVS: Índice de resistencias vasculares sistémicas

GEF: Fracción de eyección global

VSI: Índice de volumen sistólico

EVLWI: Índice agua extravascular pulmonar.

ITBI: Índice Volumen sanguíneo intratorácico

GEDVI: Índice Volumen global telediastólico

POAP: Presión de oclusión de la arteria pulmonar

IPVP: Índice de permeabilidad vascular pulmonar

VVS: Variación del volumen sistólico

VPP: Variación de la presión de pulso

CFI: Índice de función cardíaca

TREM: Triggering receptor expressed by myeloid cells

PCT: Procalcitonina

DMO: Disfunción multiorgánica

ECG: Electrocardiograma

VS: Volumen sistólico

PVC: Presión venosa central

-----

TDTP: termodilución transpulmonar

GOT: Glutamato-oxalacetato transaminasa

GPT: Glutamato-piruvato transaminasa

FA: Fosfatasa alcalina

GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa

TDRC: Técnicas de depuración renal continuas.

# **1. INTRODUCCIÓN**



## **I.- RESEÑA HISTÓRICA.**

La sepsis es uno de los síndromes más antiguos en la medicina. Hipócrates afirmó que se trataba de un proceso por el cual la carne se pudre y las heridas supuran. Más tarde Galeno consideró la sepsis como un acontecimiento necesario para la cicatrización de heridas. La palabra sepsis viene del griego σηπειν (sepein) “pudrir” y tras los estudios de Pasteur y Koch fue utilizada para definir el proceso de fermentación o putrefacción de la materia orgánica por microorganismos. Con la confirmación de la teoría de los gérmenes, el concepto de sepsis fue redefinido como una infección sistémica, un " envenenamiento de la sangre", resultado de la invasión del huésped por organismos patógenos que luego se propagan en el torrente sanguíneo. Sin embargo, esta teoría no explicaba por completo la patogénesis de la sepsis, ya que muchos pacientes con sepsis morían a pesar del éxito en la erradicación del patógeno con los nuevos antibióticos. Este hecho planteó que era la respuesta del huésped, no el germen, el responsable de la patogénesis de la sepsis<sup>1</sup>.

## **II.- DEFINICIONES DE SEPSIS Y FALLO MULTIORGÁNICO.**

En 1992 se publicó la primera conferencia de consenso internacional entre la ACCP (American College of Chest Physicians) y la SCCM (Society of Critical Care Medicine)<sup>2</sup>, con el objetivo de intentar unificar los procesos relacionados con la sepsis, definió los conceptos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), sepsis, sepsis grave, shock séptico y disfunción o fallo multiorgánico (Tabla 1 y 2).

Estas definiciones han seguido vigentes a pesar de sus múltiples inconvenientes. Sus conceptos son excesivamente amplios e inespecíficos. Habitualmente, el 66% de los pacientes de una Unidad de Cuidados Intensivos

(UCI) reúnen los criterios de SIRS, pudiendo llegar a más del 80% en una UCI quirúrgica<sup>3,4</sup>. Considerados individualmente, los diversos criterios del SIRS, tienen una alta sensibilidad que se contrarresta por su baja especificidad. El problema de la definición de sepsis radica en que dos de los cuatro criterios del SIRS (taquipnea y frecuencia cardíaca anormal) son inespecíficos y excesivamente sensibles. En cambio, la presencia de anomalías de la temperatura o el recuento leucocitario pueden ser mucho más específicos. Aunque el SIRS es habitualmente un componente de la respuesta del organismo a la infección también puede acompañar a otros trastornos, como se muestra en la tabla 3. Por ello, en el año 2.000, una nueva conferencia de consenso<sup>5,6</sup> validó las definiciones de 1.992 y estableció la necesidad de criterios diagnósticos más concretos que se reflejan en la tabla 4. Ni en la conferencia de consenso de la ACCP/SCCM ni en esta última se definieron los órganos específicos ni los parámetros de disfunción orgánica, por lo que cada grupo de ensayo clínico los define arbitrariamente, aunque en todos se emplean criterios similares a ensayos previos de la sepsis<sup>6</sup>.

Mientras se encuentran definiciones de consenso mejores, se ha propuesto una nueva clasificación de la sepsis, denominado PIRO, en el que la P sería la pre-morbilidad (Pre-morbidity), la I Insulto o agresión (Insult), R respuesta del huésped (host Response) y O disfunción orgánica (Organ dysfunction)<sup>7</sup>.

La puntuación de alguno de los sistemas de clasificación de gravedad o de afectación orgánica, que considera alteraciones clínicas y bioquímicas, como el sistema APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) y el SAPS III (Simplified Acute Organ Failure Assessment) han sido utilizados junto con las definiciones de sepsis para acercarse a su gravedad y en el caso del SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) para definir la presencia de disfunción o fracaso orgánico.

<b>INFECCIÓN:</b>	Respuesta inflamatoria a la presencia de microorganismos, o presencia de microorganismos en tejidos normalmente estériles.
<b>BACTERIEMIA:</b>	Presencia de bacterias en sangre. Viremia, fungemia y parasitemia son equivalentes y reflejan la presencia de microorganismos viables en sangre. Endotoxemia es la presencia de endotoxina o lipopolisacárido, fragmento de la pared de los bacilos gramnegativos (BGN), en sangre.
<b>SIRS:</b>	Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Respuesta inflamatoria sistémica a las infecciones graves. Precisa de la presencia de dos o más de los siguientes signos: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Temperatura &gt; 38 °C ó &lt; 36 °C.</li> <li>- Frecuencia cardíaca &gt;90 lpm.</li> <li>- Frecuencia respiratoria &gt; 20 /minuto o pCO<sub>2</sub> &lt;32 mmHg.<sup>4</sup></li> <li>- Leucocitos &gt;12000/mm<sup>3</sup> o &lt;4000/mm<sup>3</sup> o &gt;10% de formas inmaduras.</li> </ul>
<b>SEPSIS:</b>	Respuesta inflamatoria sistémica ante una infección. Para su diagnóstico requiere los criterios de SIRS y la demostración de la presencia de infección.
<b>SEPSIS GRAVE:</b>	Sepsis asociada a disfunción orgánica aguda, hipotensión (tensión arterial sistólica < 90 mmHg o reducción > 40% sobre las cifras tensionales basales, en ausencia de otra causa de hipotensión) o hipoperfusión (se incluye acidosis láctica, oliguria y/o alteración del estado mental).
<b>SHOCK SÉPTICO:</b>	Sepsis con hipotensión, a pesar de una adecuada expansión de volumen, y signos de hipoperfusión tisular <sup>B</sup> .
<b>SDMO:</b>	Síndrome de disfunción multiorgánica. Presencia de alteraciones agudas de diferentes órganos de un paciente, de forma que la homeostasis no pueda ser mantenida sin intervención.

*Tabla 1.- Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y condiciones afines. 1992 ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. A.- En respiración espontánea. Los pacientes conectados a ventilación mecánica se considera que reúnen este criterio. B.- Por definición, aquellos pacientes que reciben soporte con inotropos o drogas vasoactivas reúnen este criterio, ya que pueden estar en shock séptico y no presentar hipotensión.*



<b>Órgano o sistema</b>	<b>Disfunción</b>	<b>Fallo orgánico</b>
<b>SISTEMA NERVIOSO</b>	Obnubilación, irritabilidad	Coma
<b>CARDIOVASCULAR</b>	Disminución de la fracción de eyección. Aumento de la permeabilidad capilar	Respuesta hipodinámica pese al soporte inotrópico
<b>PULMONAR</b>	Hipoxia que precisa al menos 2-5 días de ventilación mecánica	SDRA progresivo que precisa PEEP >10 o $FiO_2 > 0.5$
<b>HEPÁTICO</b>	Bilirrubina > 3mg/dl. Transaminasas > 2 veces lo normal	Ictericia clínica
<b>RENAL</b>	Diuresis < 500ml/día. $Cr_p > 3$ mg/dl	Necesidad de depuración extrarrenal
<b>INTESTINAL</b>	Íleo o intolerancia a la dieta > 5 días	Úlceras de estrés, colecistitis alitiásica
<b>HEMATOLÓGICO</b>	T. de protrombina o TTPA > 25%. Plaquetas < 80000/mm <sup>3</sup>	CID

*Tabla 2.- Disfunción y fallo orgánico. Definiciones<sup>6</sup>.*

Postoperatorios de cirugía mayor
Politraumáticos
Pancreatitis aguda
Grandes quemados
IAM
TEP
Síndrome postcirugía cardíaca con extracorpórea
Vasculitis sistémicas (LES, PAN)
Enfermedades autoinmunes
Síndrome antifosfolípido primario
Endocrinopatías:
• Hipotiroidismo
• Insuficiencia suprarrenal
Linfoma
Lisis tumoral
Politransfusión
Anestésicos inhalatorios
Fármacos:
• Neurolépticos
• Benzodiazepinas
• Opiáceos
• Altas dosis de AAS

---

*Tabla 3.- Causas de SIRS.*

---

**Infección documentada o sospechosa, y al menos uno de los siguientes factores****Variables generales:**

- Temperatura > 38°C
- Hipotermia (temperatura base < 36°C)
- Taquicardia > 90 lpm o más de dos DS por encima del valor normal según la edad
- Taquipnea.
- Estado mental alterado.
- Edema o equilibrio positivo de fluidos (> 20 ml/Kg durante más de 24 horas)
- Hiper glucemia (glucosa en plasma > 140 mg/dl o 77 mmol/l) en ausencia de diabetes

**Variables inflamatorias**

- Recuento leucocitario > 12000/mm<sup>3</sup> o <4000/mm<sup>3</sup> o fórmula con >10% de cayados
- Proteína C reactiva en plasma superior a dos DS por encima del valor normal
- Procalcitonina en plasma superior a dos DS por encima del valor normal

**Variables hemodinámicas**

- Presión arterial sistólica (PAS) < 90 mmHg, PAM < 70 mmHg o un disminución de la PAS > 40 mmHg en adultos o inferior a dos DS por debajo de lo normal

∞

**Variables de disfunción orgánica**

- Hipoxemia arterial (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 300)
- Oliguria aguda (diuresis < 0,5 ml/Kg/h durante al menos dos horas a pesar de una adecuada reanimación con fluidos)
- Aumento de creatinina > 0,5 mg/dl o 44,2 μmol/l
- Anomalías en la coagulación (INR > 1,5 o TTPA > 60 seg)
- Íleo (ausencia de borborrigmos)
- Trombocitopenia (recuento de plaquetas < 100000 μL<sup>-1</sup>)

**Variables de perfusión tisular**

- Hiperlactacidemia (> 1 mmol/l)
- Reducción de llenado capilar o moteado

**Sepsis grave**

Sepsis con disfunción orgánica

**Shock séptico**

Sepsis más hipotensión refractaria o hiperlactacidemia

---

**Tabla 4.- Criterios para el diagnóstico de sepsis. Adaptación de Levy MM<sup>5</sup>.**

### **III.- LA SEPSIS COMO RESPUESTA ORGÁNICA A LA INVASIÓN INFECCIOSA.**

La sepsis es la respuesta del organismo a la infección. Esta respuesta, indiferente al tipo de microorganismo causante de la infección, se caracteriza por activación de distintos sistemas de proteasas (coagulación, elastasa neutrófila, complemento), inflamación intravascular, disfunción cardiovascular y una alteración en la extracción de oxígeno.

La infección, cuando progresa, desencadena una rápida respuesta del huésped que es la sepsis, cuya finalidad es la de evitar el paso y progresión de los microorganismos. Esta reacción se produce a través de la activación de cascadas bioquímicas y celulares, que inducen a la producción de mediadores y de células inmunes efectoras. La respuesta inmune contra el microorganismo invasor suele ser necesaria y adecuada a la amenaza, siendo muy enérgica en el caso de infecciones graves. El paso de infección localizada a sepsis, shock séptico y alteración multiorgánica es un proceso continuo, más que unos escalones bien definidos.

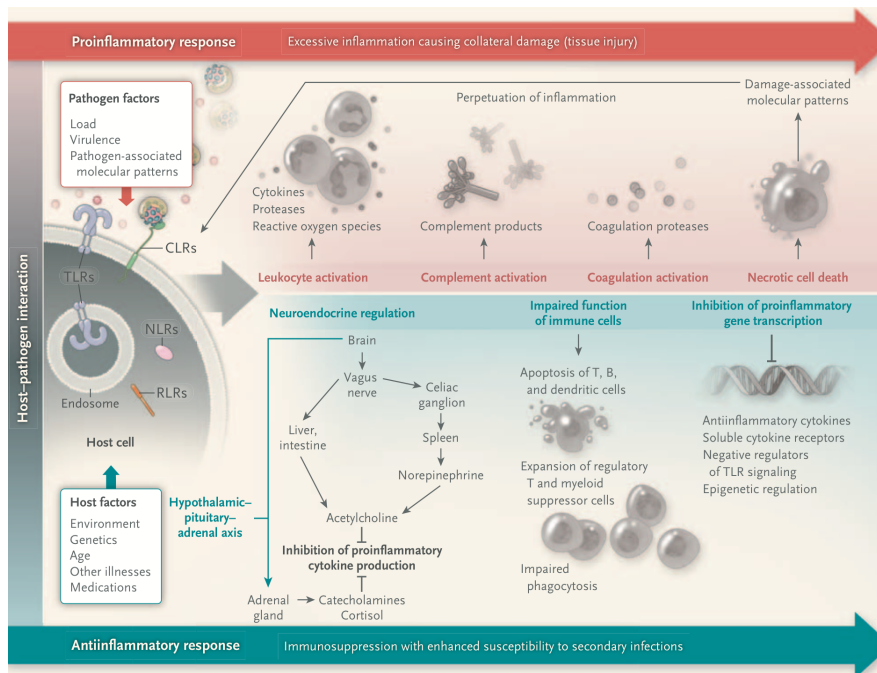
La sepsis grave, viene caracterizada por lo que se ha denominado “inflamación intravascular maligna” una respuesta inflamatoria, diseminada por la propia sangre, desmedida y potencialmente fatal para el huésped. La activación de esta respuesta es un proceso normal, adecuadamente controlado y limitado por el organismo en el sitio de la lesión pero, cuando es desproporcionada, exagerada y autopropetuada el proceso puede ser muy agresivo y se traduce en manifestaciones clínicas anormales que son englobadas bajo el término de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). Esta respuesta inflamatoria trae como consecuencia la activación de la célula y la síntesis de proteínas que modifican la respuesta efectora de la célula inmunitaria. Incluye la activación de monocitos y macrófagos, neutrófilos, células endoteliales, plaquetas y otras células; la producción de citoquinas a nivel local y sistémico; la activación de sistemas de cascada de

proteínas plasmáticas, como el sistema del complemento, las vías de coagulación intrínseca y extrínseca, el sistema fibrinolítico; la activación de mediadores lipídicos; la activación de la vía del óxido nítrico (ON); la producción de radicales libres; la activación de los linfocitos B y T y sus productos y muchas otras sustancias<sup>8</sup>.

Bone describe de esta forma tres fases en el desarrollo del SIRS. En la fase I se liberan citoquinas localmente que induce la respuesta inflamatoria, reparan los tejidos y reclutan células del sistema retículo endotelial. En la fase II, se liberan citoquinas a la circulación que aumentan la respuesta local. Se reclutan macrófagos y plaquetas y se generan factores de crecimiento. Aparece una respuesta de fase aguda, con disminución de los mediadores proinflamatorios y liberación de los antagonistas endógenos. Estos mediadores modulan la respuesta inicial. Esta situación se mantiene hasta completar la cicatrización, resolver la infección y restablecer la homeostasis. Si la agresión es importante, aparece la fase III o reacción sistémica masiva. Las citoquinas activan numerosas cascadas humorales de mediadores inflamatorios que perpetúan la activación del sistema retículo endotelial, con pérdida de la integridad microcirculatoria y lesión en órganos diversos y distantes.

La respuesta del huésped, es así el factor determinante de la sepsis, más que el propio microorganismo, que sólo activaría el gatillo de una reacción desmesurada y dañina. Simultáneamente se inicia una respuesta antiinflamatoria para limitar la reacción inflamatoria, se segregan citoquinas antiinflamatorias como la interleuquina (IL)-10, IL-11 y IL-13, que disminuyen la activación de cascadas y que reducen los niveles de las citoquinas proinflamatorias factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), IL-1  $\beta$  e interferón gamma (IFN- $\gamma$ ). Se elevan los niveles de los antagonistas de los receptores de la IL-1 (IL-1ra) y los receptores solubles del TNF- $\alpha$  que neutralizan el TNF circulante. El receptor soluble CD14 actúa también inhibiendo la respuesta inflamatoria. Una respuesta antiinflamatoria excesiva puede

llevar a un síndrome de respuesta antiinflamatoria compensatoria (CARS) excesivo, con depresión de la función monocitaria e inmunosupresión (Figura 1).



**Figura 1.-** Respuesta del huésped en la sepsis severa. Tomado de Angus DC<sup>1</sup>.

El compromiso de la función endotelial forma parte de la respuesta multicelular integrada del huésped frente a un patógeno agresor. En condiciones normales, el endotelio cumple un papel anticoagulante, antiadhesivo para los leucocitos y regulación del tono vascular. Durante la sepsis la célula endotelial presenta una serie de características:

1) Propiedades procoagulantes: Activación de la vía extrínseca de la coagulación tras aumento de la expresión del factor tisular con disminución de la actividad anticoagulante natural.

2) Propiedades proadhesivas: expresión en la superficie del endotelio de moléculas de adhesión, selectinas, integrinas y receptores CD-18 que inducen la adhesión de los leucocitos.

3) Pérdida de la función de barrera: aumento de la permeabilidad con redistribución de fluidos al espacio extravascular y al interior de los tejidos, ocasionando una disfunción orgánica, siendo el caso más dramático el síndrome de distrés respiratorio agudo y,

4) Apoptosis de la célula endotelial: aumentando la respuesta inflamatoria. Esta disfunción puede culminar en una alteración grave de la homeostasis vascular que se caracteriza por oclusión microvascular de magnitud variable que puede llevar a un desequilibrio entre la oferta y demanda de oxígeno a nivel tisular<sup>9</sup>.

En la sepsis y en la lesión por isquemia/reperfusión el órgano diana es la microcirculación. Numerosas experiencias han comprobado que la capilaridad está deprimida en el shock séptico: no hay densidad de capilares y no hay buen flujo capilar. Las alteraciones en las dimensiones de los pequeños vasos sanguíneos (disminución del calibre), conjuntamente con alteraciones en las características bioquímicas (factores inflamatorios) y fisiológicas (activación de la coagulación) de la sangre durante el shock séptico, constituyen una amenaza doble a la microcirculación, que se manifiesta por hipoperfusión e isquemia<sup>7</sup>.

### **1.- INDUCTORES DE LA SEPSIS:**

El inductor de la respuesta inflamatoria mejor conocido es la endotoxina o lipopolisacárido (LPS) de las bacterias gram negativas, aunque son muchas las sustancias inductoras de sepsis, como se muestra en la tabla 5. De todas estas sustancias inductoras de la sepsis la más ampliamente estudiada y que mejor se conoce su mecanismo de acción es el LPS de las bacterias gram negativas, iniciando la activación de la respuesta inflamatoria (figura 2).

<ul style="list-style-type: none"><li>• Bacterias gramnegativas:<ul style="list-style-type: none"><li>- Endotoxina (LPS).</li><li>- Lipoproteína, peptidoglicano, ácido lipoteitico, polisacárido capsular, ADN bacteriano.</li></ul></li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Bacterias grampositivas:<ul style="list-style-type: none"><li>- Componentes de la pared celular: peptidoglicanos, ácido lipoteitico.</li><li>- Factores solubles:<ul style="list-style-type: none"><li>a) Superantígenos: TTS-1 (síndrome del shock tóxico estafilocócico; toxina eritrogénica del estreptococo del grupo A).</li><li>b) Proteasa: fosfolipasa C (clostridio); lipasa y nucleasa (S. aureus); neuraminidasa (S. pneumoniae); exotoxina del estreptococo pirogénico (S. pyogenes).</li><li>c) Porinas: <math>\alpha</math> hemolisina (E. coli); leucocidina y catalasa (S. aureus); neumolisina (S. pneumoniae); estreptolisinas S y O (S. pyogenes).</li></ul></li></ul></li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Otros: antígenos rickettsiales, víricos y fúngicos.</li></ul>

*Tabla 5.- Principales inductores de la sepsis.*

## **2.- RESPUESTA DEL HUÉSPED A LA INFECCIÓN:**

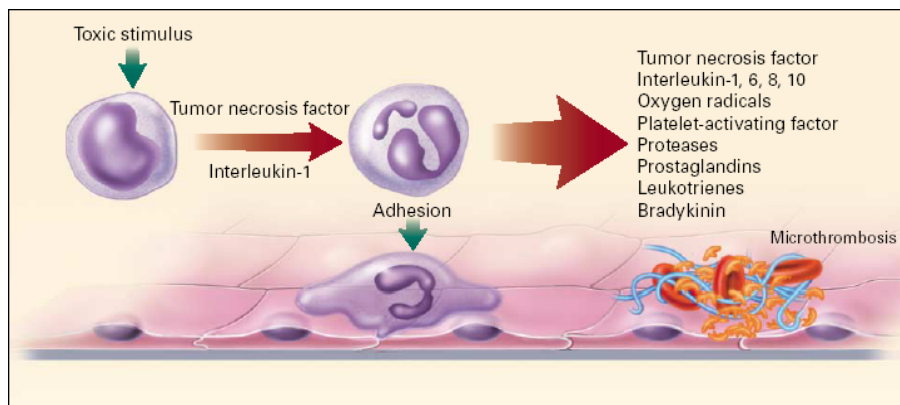
En los últimos años hemos asistido a un gran avance en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis. Se trata de un proceso clínico muy complejo, alrededor del eje inflamación-antiinflamación, y que implica tres procesos que se desarrollan de forma simultánea e interrelacionada: inflamación-antiinflamación, activación de la coagulación y disminución de la fibrinólisis.

### **2.1.- INFLAMACIÓN-ANTIINFLAMACIÓN:**

Los patógenos promueven la activación precoz del sistema de contacto (factor XII, precalicreina y kininógeno de alto peso molecular) y la cascada de complemento, e inducen una rápida liberación de mediadores inflamatorios a partir



de diferentes tipos celulares (monocitos y células endoteliales), cambios que corresponden con el cuadro clínico de SIRS.



**Figura 2.-** Activación de la respuesta inflamatoria. El estímulo tóxico inicial (por ejemplo la endotoxina) desencadena la producción de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$  y IL-1) por el monocito / macrófago. Estas citoquinas dan como resultado la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales, activación del coágulo y generación de numerosos mediadores inflamatorios secundarios, incluyendo otras citoquinas desencadenando un efecto cascada con múltiples funciones de amplificación y regulación, prostaglandinas, leucotrienos y proteasas. También se liberan componentes antiinflamatorios, como la IL-6 y la IL-10, que pueden actuar como "feed-back" negativa del proceso inflamatorio. Tomado de Wheeler<sup>10</sup>.

De forma simultánea, las vías antiinflamatorias endógenas son activadas, las cuales sirven para frenar la respuesta inflamatoria. Estas dos fases son coordinadas para defender al huésped contra la invasión de patógenos, sin embargo, una respuesta inflamatoria excesiva o mantenida, una inadecuada respuesta antiinflamatoria o una descoordinación de las dos fases puede contribuir al daño tisular y a la muerte.

### 2.1.1- MEDIADORES INFLAMATORIOS Y ANTIINFLAMATORIOS.

PROINFLAMATORIOS - SIRS	ANTIINFLAMATORIOS - CARS
IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18	Receptor IL-1 tipo II
TNF- $\alpha$	IL-4,
IFN $\gamma$ , CD14	IL-6
Troboxano	IL-10, IL-11, IL-13
Factor activador de plaquetas	IL-1ra (antagonista del receptor IL-1)
Moléculas de adhesión	Factor transformador crecimiento- $\beta$
Péptidos vasoactivos	Receptores solubles del FNT- $\alpha$
Fosfolipasa A <sub>2</sub>	Receptor soluble CD14
Inhibidor activador plasminógeno 1	LPS binding protein
Neopterina, elastasa	Antagonista receptores leucotrieno B <sub>4</sub>
Eicosanoides	Factores estimuladores de las colonias
Radicales libres, óxido nítrico	Otros
Otros	

*Tabla 6.- Principales mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios<sup>8</sup>.*

### 2.1.2.- CITOQUINAS.

Una de las familias de mediadores de la respuesta inflamatoria mejor conocida es la de las citoquinas, glicoproteínas de bajo peso molecular que actúan como señal para que determinadas células movilicen a distancia las defensas del huésped. Se caracterizan por tener efectos pleomórficos, al compartir entre ellas algunas funciones, estar producidas por diferentes células del organismo y tener múltiples células diana. Se clasifican por sus funciones biológicas principales y se producen en situaciones de stress. Algunas, como el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), la interleuquina (IL)-1  $\beta$  y el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) son activadoras

del proceso inflamatorio, y otros como la IL-4, la IL-10. IL-13 y el factor transformador del crecimiento (TGF)-  $\beta$  tienen características antiinflamatorias<sup>11</sup>.

CITOQUINA	EFECTOS PRINCIPALES
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Induce la actividad antimicrobiana del monocito. Incrementa producción de polimorfonucleares. Activa el sistema de complemento y cascada de coagulación Disminución del tono vascular. Incremento permeabilidad capilar. Promueve aparición de moléculas de adhesión.
<b>IL-6</b>	Estimula macrófagos, agregación plaquetar, moléculas de adhesión, IL-1ra y SOCS (supressor of citokine signaling).
<b>IL-8</b>	Factor quimiotáctico y activador de neutrófilos. Regulación en la producción de proteínas de adhesión y formación del factor activador de plaquetas
<b>IL-10</b>	Limita la producción de óxido nítrico y radicales libres por los macrófagos
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Activa señal de transducción que induce activación de factores de transcripción como el NF- $\kappa\beta$ y la proteína de activación 1(AP-1)
<b>IL-18</b>	Estimula la producción de IFN- $\gamma$ , la expresión de moléculas de adhesión y la producción de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ .
<b>IL-12</b>	Activación de Th1 (linfocitos T cooperadores pro-inflamatorios). Estimulan producción y citotoxicidad de las células T citotóxicas y natural killer.
<b>IFN-<math>\gamma</math>:</b>	Liberación de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 Aumento en la actividad del TNF- $\alpha$ . Aumenta la producción de moléculas de adhesión. Induce cambios en las células endoteliales.

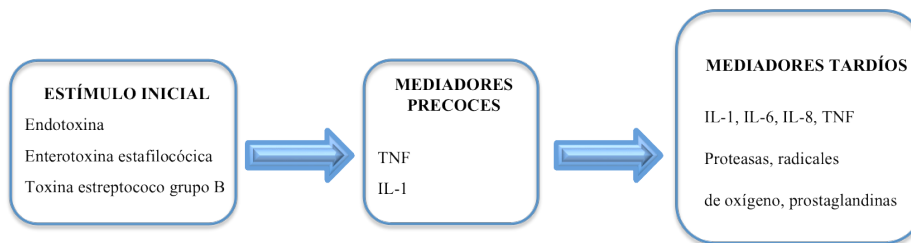
*Tabla 7.- Citoquinas y sus principales efectos.*

El efecto neto de una citoquina dependerá del momento de su producción, del ambiente local donde actúe, de la presencia de elementos compensadores o sinérgicos, de la densidad de los receptores y de la respuesta tisular a cada citoquina. Además de los macrófagos, los linfocitos, las células

endoteliales y prácticamente cualquier tipo celular es capaz de producir citoquinas tras su activación por diferentes estímulos.

Básicamente, los tres efectos más importantes a través de los cuales las citoquinas producen la inflamación y la lesión tisular son: a) la lesión endotelial difusa produciendo aumento de la permeabilidad vascular, b) marginación y activación de los polimorfonucleares en el endotelio y c) su potente actividad procoagulante. Además, estas citoquinas pueden inducir la producción por parte de los neutrófilos de radicales libres y enzimas proteolíticas<sup>12</sup> (Tabla 7).

Otros mediadores con características proinflamatorias han sido implicados en la respuesta a la agresión, como IL-2, IL-15, IL-16 y la IL-17. Otras citoquinas con actividad antiinflamatoria son la IL-4, IL-13 e IL-11.



**Figura 3.-** Mediadores de la inflamación.

Por tanto, las citoquinas son un elemento clave en la modulación de la respuesta inflamatoria que caracteriza la sepsis. La cinética de los niveles plasmáticos de las moléculas pro y antiinflamatorias ha sido estudiada con detalle, predominando en una primera fase las moléculas de efecto proinflamatorio y en fases posteriores predominan fenómenos antiinflamatorios, asociados a un descenso de la producción de óxido nítrico. Las citoquinas se liberan de una manera secuencial, lo que resulta en una “cascada de citoquinas”. Esta se inicia cuando los organismos patógenos están expuestos a la respuesta inmune del huésped, lo que induce la producción y secreción de citoquinas precoces, como

TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Estas actúan sinérgicamente para estimular la liberación de citoquinas "tardías", como la IL-6 y 8 y citoquinas antiinflamatorias, como IL-4, -10 y -13. Aunque, más importante que la concentración plasmática de las citoquinas per se, es el equilibrio entre las proinflamatorias y las antiinflamatorias lo que condiciona la respuesta inmune, y que se ha venido a denominar "balance de citoquinas" (Figura 3).

#### 2.1.2.1.- Papel de las citoquinas en la respuesta sistémica a la infección:

El estímulo tóxico inicial desencadena la producción de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$  e IL-1) tanto a nivel local como sistémico. Estas citoquinas dan como resultado la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales, vasodilatación, fiebre, coagulación y generación de numerosos mediadores secundarios y liberación de componentes antiinflamatorios, que pueden actuar como feed-back negativo del proceso inflamatorio.

El TNF- $\alpha$  es la primera citoquina proinflamatoria que se libera y que pone en marcha la complicada respuesta inflamatoria. Tras la activación, los procesos de transcripción genética y traslación sufren un fenómeno de up regulation, lo que permite que grandes cantidades de TNF- $\alpha$  sean secretadas en pocos minutos, alcanzando un pico máximo entre hora y media y dos horas; a continuación de este proceso, ocurre el fenómeno opuesto, down regulation, cayendo el macrófago en un periodo refractario que dura entre 12 y 24 horas. Diversos estudios han observado una asociación entre los niveles plasmáticos de TNF- $\alpha$  con el score de gravedad APACHE II, con la aparición del SDRA<sup>13</sup> y con la evolución final<sup>14, 15</sup>.

Mientras que en la meningococemia, las concentraciones altas de TNF- $\alpha$  predicen la mortalidad, en una población de pacientes con sepsis de origen variado no se confirma esta correlación. Tampoco sucede lo mismo en las situaciones de sepsis abdominal donde no se puede establecer de forma clara una relación con la

supervivencia. Los modelos experimentales aportan algunos datos a esta aparente discordancia, implicando la presencia de receptores solubles circulantes y el momento de la determinación plasmática de TNF, dada su relativa vida media corta<sup>16</sup>.

La IL-6, liberada en grandes cantidades bajo la influencia de TNF- $\alpha$  e IL-1, es la citoquina que de forma más constante se encuentra elevada en plasma en pacientes con sepsis. Los niveles están elevados en la sepsis durante toda su evolución, incluso cuando el cuadro clínico de SIRS ha remitido. La IL-6 estimula al hepatocito a sintetizar proteínas plasmáticas como el fibrinógeno y la proteína C reactiva (PCR), las cuales contribuyen a la respuesta de fase aguda. Se ha observado una correlación entre la IL-6 y otros marcadores inflamatorios, como la procalcitonina y la PCR, pero al contrario que la procalcitonina, los niveles de IL-6 no añaden un valor diagnóstico<sup>17</sup>. Sus valores se han correlacionado de forma positiva con la evolución, reflejando la intensidad y gravedad de la respuesta inflamatoria<sup>13, 15, 18-20</sup>. El estudio de Harbarth y cols<sup>17</sup> describieron unos valores de IL-6 > 1000 pg/ml, como el parámetro con mayor capacidad discriminativa para predecir la mortalidad asociada a la sepsis. En los últimos años, se ha observado que las neumonías comunitarias de peor evolución y mayor gravedad, presentan niveles elevados de IL-6 e IL-10, encontrando una asociación con signos de hipotensión, bacteriemia y derrame pleural<sup>21</sup>. También los niveles de IL-6 se han correlacionado de forma directa con el riesgo de muerte en la sepsis abdominal, y sus medidas predecían el resultado final con una marcada exactitud<sup>22</sup>. Se consideran elevaciones mantenidas como más relevantes que el valor inicial o los valores pico en términos de resultado<sup>23, 24</sup>.

La IL-10 es la citoquina antiinflamatoria más importante en la respuesta inmune. Es un potente inhibidor del TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8 entre otras. Al contrario que las citoquinas que ya hemos comentado, los niveles de IL-10 en el shock séptico se encuentran elevados, independientemente de la presencia o no de

infección documentada microbiológicamente, pero se relacionan con la presencia de bacteriemia y con la gravedad del shock séptico medida por la escala APACHE II<sup>25</sup> y SAPS II . Heper y cols<sup>26</sup> observaron que los niveles de IL-10, junto con la procalcitonina discriminaban entre sepsis y sepsis severa, y que junto con el TNF- $\alpha$  predecían los casos con peor evolución. Una elevación en la relación IL-10: TNF- $\alpha$ , también se ha relacionado con la gravedad de la sepsis y con un peor pronóstico en enfermos con diferentes infecciones<sup>27</sup>. En un estudio realizado en la fase inicial de la pancreatitis se determinaron los valores de IL-6, 8 y 10, siendo la IL-10 el marcador que con mayor fiabilidad permitía predecir la evolución pronóstica de la pancreatitis<sup>28</sup>.

La IL-8, factor quimiotáctico y activador de neutrófilos presenta unos niveles elevados en pacientes con shock séptico y estos niveles son buenos marcadores de severidad de la enfermedad, así como de la evolución. Hack et al<sup>29</sup> fueron los primeros en describir como los niveles de IL-8 en pacientes con sepsis se encontraban elevados a su ingreso y a las 60 horas posteriores, descendiendo posteriormente. El valor pronóstico de los niveles de IL-8 ha sido descrito como uno de los mejores biomarcadores pronóstico en este tipo de pacientes<sup>30</sup>. Recientemente De Pablo R y cols<sup>31</sup>, encontraron diferencias significativas en los niveles de IL-8 entre los pacientes que presentaban fracaso renal agudo al ingreso en la UCI como consecuencia de la sepsis y niveles superiores de esta citoquina en pacientes con coagulopatía en el momento inicial de la sepsis, confirmando los resultados obtenidos en estudios previos<sup>32</sup>.

Se ha observado una importante interrelación entre el sistema de coagulación y la inflamación, como demuestra el estudio de Shorr y cols, que encontraron una correlación entre los niveles de Dímero D y la activación de la cascada de citoquinas proinflamatorias, con una ausencia de relación entre DD y citoquinas anti-inflamatorias (IL-10), lo que sugiere que la presencia de DD en

pacientes sépticos puede reflejar el desequilibrio entre las citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias<sup>33</sup>.

#### 2.1.3.- MEDIADORES LIPÍDICOS.

Existen diferentes mediadores lipídicos que forman parte de la respuesta inflamatoria. Estos mediadores incluyen el factor activador de plaquetas (PAF) y los eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y HETEs) y constituyen potenciales dianas en la modulación de la activación de las células inflamatorias intra y extracelular.

El PAF es un fosfolípido quimiotáctico y estimulante de diversas células, como plaquetas, macrófagos y neutrófilos. Se sintetiza por la fosfolipasa A2 a partir de los fosfolípidos de membrana, siendo liberado por plaquetas, monocitos, macrófagos, neutrófilos eosinófilos, mastocitos, linfocitos y células endoteliales tras un estímulo inmunitario (antígeno, Il-1, Ig E) o no inmunitario (ionóforos de calcio, factores quimiotácticos, trombina).

Sus efectos pueden ser directos o indirectos. En el primer caso, el PAF se une al receptor de superficie de las células y las activa, induciendo agregación plaquetaria y quimiotaxis neutrofílica. Indirectamente, tras activar la célula, causa la liberación de otros mediadores como la histamina en los mastocitos, serotonina y tromboxano A2 en las plaquetas y superóxido y metabolitos del ácido araquidónico en los neutrófilos<sup>34</sup>.

#### 2.1.4- ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y ESTRÉS OXIDATIVO.

Como se ha mencionado anteriormente, la respuesta inflamatoria conlleva a una situación de estrés celular, lo que va a dificultar un adecuado metabolismo. Tras la activación de las células fagocíticas, el sistema enzimático NADPH oxidasa



genera diferentes especies reactivas del oxígeno (ERO). Existe en el organismo un equilibrio entre ERO y los sistemas de defensa antioxidante, pero cuando dicho equilibrio se

descompensa, es decir, cuando tiene lugar un exceso de oxidantes y/o una depleción de antioxidantes se produce el denominado estrés oxidativo (EO).

Un radical libre es cualquier molécula o átomo que tiene en su última capa uno o más electrones desapareados, es decir, un número impar de electrones, lo que le confiere una gran reactividad y la capacidad de generar nuevos radicales libres. Aproximadamente un 2% del oxígeno molecular ( $O_2$ ) es reducido en forma incompleta al aceptar un menor número de electrones, dando origen a compuestos intermedios inestables, que son las ERO. Estas son capaces de escapar de la mitocondria y producir daño sobre estructuras celulares, particularmente sobre membranas, proteínas, lípidos y ADN, induciendo su oxidación. Los más estudiados son: 1) El anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) actúa como agente proinflamatorio, capaz de reclutar neutrófilos, inducir liberación de factores quimiotácticos y otros mediadores proinflamatorios, como TNF- $\alpha$  e IL-1, generar daño sobre el ADN e iniciar la peroxidación lipídica. 2) El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que es capaz de inactivar enzimas, atravesar membranas celulares y reaccionar tanto con átomos de hierro como de cobre para producir el radical OH $\cdot$ . 3) El radical hidroxilo (OH $\cdot$ ) que es extremadamente reactivo y produce daño sobre el ADN, proteínas y lípidos, induciendo peroxidación lipídica y daño sobre membranas capaz de estimular la respuesta inflamatoria.

Además de las ERO, las especies reactivas del nitrógeno (ERN) pueden inducir por sí mismas un estrés nitrosativo o daño, o combinarse con las ERO para aumentar el daño oxidativo. Entre ellas se incluye el óxido nítrico (ON) y el peroxinitrito (ONOO $\cdot$ ). El ONOO $\cdot$  se forma por la reacción entre el ON y el  $O_2^{\cdot-}$  y es capaz de inducir la peroxidación lipídica en lipoproteínas, interferir con la

señalización celular por nitración de residuos de tirosina, oxidar grupos tioles y guanosinas, degradar glúcidos y fragmentar el ADN.

Como consecuencia, se originan nuevos radicales libres capaces de reaccionar con otras moléculas. Es por ello, que los organismos aerobios requieren de la formación continua de mecanismos para neutralizar los radicales libres. El exceso de ERO se bloquea por moléculas antioxidantes que tienen la capacidad de retrasar o inhibir la oxidación de un sustrato. Según su naturaleza, hablamos de sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (tabla 8).

Sistemas enzimáticos	Sistemas no enzimáticos
Superóxido dismutasa (SOD)	Vitamina E
Catalasa	Tioles
Peroxidasas	Ácido ascórbico
Sistema glutatión-glutatión reductasa.	Uratos
Glutatión peroxidasa (GSH-Px).	Vitamina A y carotenos
Sistema tioredoxina reductasa	Ubiquinonas y ubiquinol
Sistema lipoamida	

*Tabla 8.- Sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.*

Las principales moléculas con capacidad de inhibir las ERO son la SOD, CAT y el sistema del glutatión. La SOD es una enzima intracelular distribuida por todo el organismo, capaz de transformar el  $O_2^-$  en  $H_2O_2$ . El  $H_2O_2$  es entonces reducido por la CAT, presente en el interior de los glóbulos rojos, o por la GSH-Px, y transformado en agua. El equilibrio en la actividad de la CAT respecto de SOD permite mantener la homeostasis REDOX intracelular. La GSH-Px, complejo enzimático que contiene selenio y utiliza glutatión, participa en la protección celular contra las ERO, metabolizando  $H_2O_2$  y radicales peroxilo. La actividad de

la enzima GSH-Px depende del oligoelemento selenio. Este sistema enzimático se recicla constantemente y el cociente glutatión reducido/glutatión disulfuro (oxidado) (GSH/GSSG) permite estimar el grado de estrés oxidativo existente.

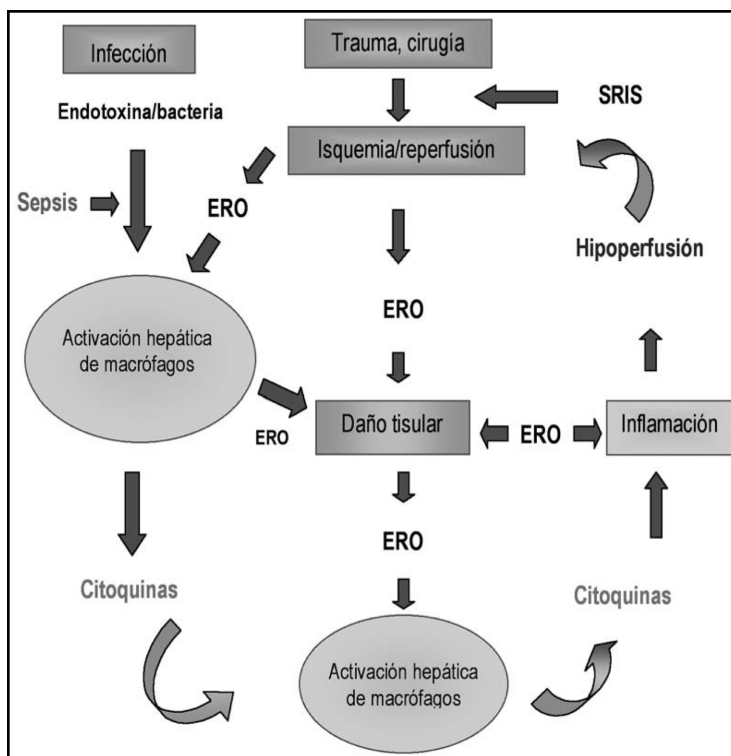
Las vitaminas C (ácido ascórbico) y E (alfa tocoferol) tienen funciones antioxidantes. La vitamina C disminuye la peroxidación lipídica, los niveles de  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  y del ión hipoclorito, y mantiene estables los niveles de glutatión y de vitamina E. La vitamina E es el principal antioxidante capaz de prevenir y bloquear la peroxidación lipídica<sup>35</sup>.

#### 2.1.4.1.- Fuentes de radicales libres:

Los mecanismos fisiopatológicos que participan en la sepsis y shock séptico, como la hipoxia, la hipoperfusión, el daño endotelial y la activación celular, dan origen a grandes cantidades de radicales libres capaces de participar en la defensa frente a agentes infecciosos, pero también capaces de producir daño sobre estructuras y tejidos, activando y perpetuando la respuesta inflamatoria (Figura 4).

La producción de ERO en el paciente crítico se puede producir por cuatro vías, creando un círculo vicioso de inflamación, activación celular y generación de ERO<sup>36</sup>:

- a. La cadena respiratoria mitocondrial, por ejemplo el shock séptico.
- b. Sistema NADPH oxidasa, por ejemplo durante la sepsis severa.
- c. Incremento de la actividad de la enzima xantina oxidasa en procesos de isquemia-reperfusión tales como el trasplante de órganos y la cirugía vascular y cardíaca.
- d. Iones como  $Fe^{3+}$  y  $Cu^{2+}$ , liberados en lisis celulares y que aumentan el EO.



**Figura 4.-** Producción de especies reactivas de oxígeno durante la enfermedad crítica. Tomada de Pérez de la Cruz A<sup>36</sup>.

Las ERO no sólo producen un daño directo de los componentes celulares, sino que también desencadenan la liberación de citoquinas, que activan la cadena inflamatoria e incrementan la expresión de moléculas de adhesión. Son además capaces de activar factores que inducen la expresión génica de citoquinas siendo el más conocido el factor nuclear K (NF-κB), lo que tendría repercusión en la expresión y control de la respuesta inflamatoria.

Durante la enfermedad crítica, además de los mecanismos antes descritos, muchos factores pueden combinarse para incrementar drásticamente la producción

de radicales libres y su consecuente daño a los tejidos: la elevación de la concentración de oxígeno por compromiso respiratorio, el tratamiento con óxido nítrico, el empeoramiento de la función renal que lleva a la disminución de depuración de sustancias que pueden ser pro-oxidantes, el desequilibrio de fluidos y electrolitos y la pérdida masiva de antioxidantes<sup>36</sup>.

#### 2.1.4.2.- Indicadores de estrés oxidativo:

Muchos indicadores de daño oxidativo están siendo investigados en ensayos clínicos y los resultados podrán ayudar al clínico a determinar el daño por ERO y valorar la evolución de la enfermedad. Las sustancias y enzimas señaladas en la tabla 9 pueden ser utilizadas como indicador o biomarcador de EO.

El conocimiento de índices que permitan conocer el daño oxidativo forma parte tanto del diagnóstico, como de la terapia de las enfermedades del paciente crítico. Todas las macromoléculas son blanco de los radicales libre: los glúcidos se oxidan e hidrolizan; las proteínas sufren alteraciones estructurales y funcionales; la peroxidación lipídica puede derivar en autocatalización de reacciones en cadena con sucesiva formación de radicales libres; y la oxidación de ácidos nucleicos puede producir mutagénesis, diferenciación anormal, y alteración en la reparación del DNA<sup>37</sup>.

Entre los indicadores que se conocen, los más relevantes son el cociente GSSG/GSH como indicador de daño oxidativo en el citosol, el malondialdehído y el hidroxinonenal como indicadores de daño a los lípidos, pentano y etano también como índices de lipoperoxidación lipídica, grupos carbonilo, ácidos sulfónicos y 2-oxohistidina como daño en proteínas<sup>38</sup>.

La capacidad antioxidante del suero (CAT) proporciona una medida global de la protección contra el daño oxidativo.

MUESTRA	PARÁMETRO
Plasma	GSSG/GSH
	Glutación peroxidada
	Superóxido dismutasa
	Peróxidos lipídicos
	Carbonilos de las proteínas
	Malondialdehído
	Selenio
	Vitaminas E y C
	Catalasa
	Tocoferol
	Caroteno
Orina	8-OH-2-deoxi Guanosina
	Sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico (TBARS)
	F2-isoprostanos
Aire exhalado	8-isoprostano
	Sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico
	Etano, pentano

*Tabla 9.- Biomarcadores de estrés oxidativo.*

#### **A) Peroxidación lipídica de las membranas celulares. Producción de MDA.**

La peroxidación lipídica es el daño oxidativo producido por el OH<sup>•</sup> sobre los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares. Esto hace que las estructuras fosfolipídicas de las membranas se desorganicen y destruyan, perdiendo su función.

La peroxidación lipídica produce metabolitos, algunos de ellos altamente tóxicos, como los aldehídos malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal, e hidrocarburos de cadena intermedia como pentano y etano pero nunca metano, los cuales se eliminan por la respiración<sup>39</sup>. El daño sobre lípidos puede ser medido a través de la detección de TBARS “thiobarbituric acid-reactive substances” en

plasma u orina. Los TBARS no sólo son marcadores de peroxidación lipídica, sino que también podrán participar como inductores de fallo multiorgánico a distancia.

### **B) Xantina oxidasa.**

La xantina oxidasa forma parte de los sistemas de daño oxidativo a las proteínas. Una vez sintetizada la xantina oxidoreductasa se presenta en dos formas: xantina deshidrogenasa (XDH) y xantina oxidasa (XO). La xantina oxidasa reductasa (XOR) es una enzima compleja con actividad pro y antioxidante, que resulta indispensable en la homeostasis del organismo humano. Su papel fundamental reside en su implicación en el catabolismo purínico, con el resultado final de ácido úrico, un importante agente antioxidante que protege el endotelio vascular del daño oxidativo durante la inflamación<sup>40</sup>.

La XO tiene capacidad de producir radicales libres y está implicada en la disfuncionalidad endotelial, ya que cuando la XO se fija al endotelio vascular, inhibe la producción de ON en las células musculares lisas, en parte por la formación de peroxinitrito a partir de  $O_2^{\cdot -}$  y ON, y de esta forma se impide el efecto relajante local.

### **C) Glutatión reducido (GSH) y oxidado GSSG.**

El glutatión ( $\gamma$ -glutamil cistenil glicina-GSH) es un tripéptido formado por glutámico, cisteína y glicina; se encuentra en todas las células, jugando un papel importantísimo como antioxidante celular en la defensa frente a enfermedades y agresiones endógenas y exógenas.

El grupo activo es el sulfhidrilo del residuo de cisteína, ejerciendo su papel protector cuando se presenta en su forma reducida (GSH). Un elevado cociente entre el glutatión reducido y el glutatión oxidado (GSH/GSSH) es necesario para la

correcta homeostasis del organismo<sup>38</sup>. Por tanto, un indicador de estrés oxidativo es el aumento de la concentración de glutatión oxidado, con el consiguiente desequilibrio del estado redox del glutatión, aumentando el cociente GSSG/GSH.

Entre sus funciones se encuentra la detoxificación de xenobióticos, carcinógenos, radicales libres y peróxidos, la regulación de la función inmune y el mantenimiento de la estructura y función proteica.

#### **D) Capacidad antioxidante total.**

Refleja la capacidad global del plasma para prevenir el daño por radicales libres.

El elevado consumo de antioxidantes presentes en los enfermos críticos hace esperable que los niveles de CAT estén disminuidos en estos enfermos. En un estudio realizado por Pascual y cols<sup>41</sup> en pacientes con shock séptico, se encontró que la CAT no estaba disminuida significativamente respecto de los controles, probablemente debido a un aumento de la bilirrubina y ácido úrico plasmático, ambos con ciertas propiedades antioxidantes.

#### 2.1.4.3.- Estrés oxidativo en la sepsis grave y el shock séptico:

El EO está implicado en la sepsis grave, el shock séptico y el fallo multiorgánico, evidenciado por un incremento de los biomarcadores del daño a estructuras celulares y/o por la disminución de los antioxidantes circulantes<sup>42</sup>.

Aunque no está claro cuáles de los marcadores de estrés oxidativo son los que mejor se correlacionan con la evolución clínica del paciente crítico, algunos autores sugieren que los pacientes más graves evaluados por escalas de gravedad como el SOFA o APACHE III, presentan mayores valores de daño oxidativo sobre lípidos y proteínas, que podrían ser utilizados como marcadores precoces y



sensibles para evaluar la intensidad del daño<sup>43, 44</sup>. Además los niveles de estos marcadores podrían tener una correlación con la evolución a disfunción multiorgánica<sup>45</sup>.

Estudios clínicos realizados en pacientes con sepsis muestran una elevación en las cantidades de ERO y una disminución en el nivel de antioxidantes:  $\alpha$ -tocoferol, vitamina A, vitamina C, selenio<sup>43, 46, 47</sup>. Observan además que los niveles plasmáticos de CAT eran menores en pacientes sépticos cuando los comparaban con sujetos sanos y, que aquellos pacientes con sepsis que sobrevivían al evento séptico tenían niveles superiores de CAT que los que fallecían<sup>43</sup>.

Se ha estudiado el papel de las ERO y de la actividad de la xantina oxidasa en relación a la severidad de la sepsis y la disfunción multiorgánica, debido al fallo en el control de la microcirculación que conlleva a una perfusión disminuida e isquemia. Los niveles de ácido úrico se elevan por activación de la XO en tejidos sometidos a isquemia-reperfusión. Así, Galley y cols<sup>47</sup> observaron que los pacientes críticos que fallecían presentaban niveles más bajos de XO, mayor producción de radicales libres y niveles más altos de lactato que aquellos que sobrevivían.

Resultados similares han sido descritos en pacientes con SDRA. Así, Metnitz y cols<sup>48</sup> evidenciaron un aumento continuo de los productos de peroxidación lipídica a lo largo de su enfermedad y una caída en los niveles de antioxidantes plasmáticos (vitaminas E y C, Betacaroteno y selenio) en pacientes con SDRA. En un estudio de oxidación de proteínas en el SDRA<sup>49</sup>, se encontraron concentraciones plasmáticas modestamente elevadas de grupos carbonilo de las proteínas. El consumo claro de glutatión reducido con la aparición de glutatión oxidado en muestras de BAL de pacientes sépticos con SDRA también ha sido constatado<sup>50</sup>.

En el paciente crítico, la producción de ERO combinada con el déficit de

glutación contribuye a la mortalidad<sup>36</sup>.

El papel del estrés oxidativo es muy evidente en procesos inflamatorios-degenerativos de afectación digestiva en el que destaca la pancreatitis aguda observando una disminución del tripéptido GSH y un aumento de los peróxidos lipídicos<sup>51-53</sup>, así como, niveles menores de carotenoides, vitamina A y vitamina E en pacientes con pancreatitis aguda en comparación con pacientes sanos, observando efectos beneficiosos tras la administración de antioxidantes<sup>54</sup>.

Considerando el papel que parece tener el estrés oxidativo en el daño celular durante la sepsis grave y el shock séptico, diversos estudios han planteado que agentes capaces de restablecer el balance negativo de estrés oxidativo serían de gran utilidad como parte de la terapia en este grupo de enfermos

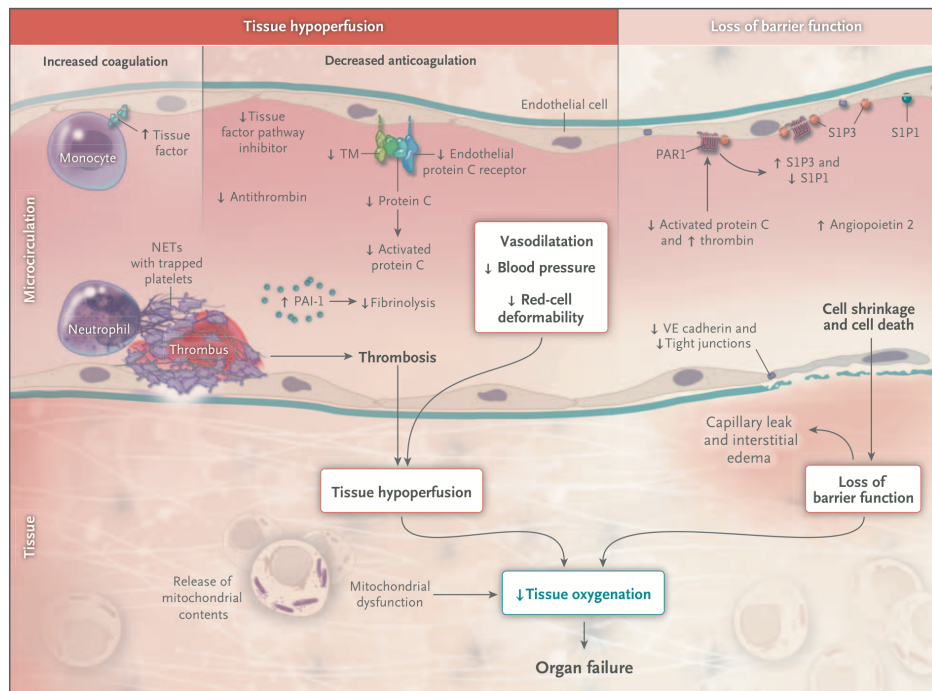
## **2.2.- COAGULACIÓN EN LA SEPSIS:**

La sepsis tiene una fisiopatología compleja en la que están involucrados la activación de la respuesta inflamatoria, la activación de la cascada de la coagulación y la inhibición de los mecanismos fibrinolíticos. Los sistemas inflamación y coagulación interactúan pudiendo la coagulación modular la respuesta inflamatoria.

El endotelio vascular, en condiciones normales, regula la formación del coágulo y su lisis. Sus funciones pueden estar alteradas por la exposición e agentes infecciosos o mediadores inflamatorios como la endotoxina bacteriana, los componentes del complemento, la IL-1, el TNF- $\alpha$  o las proteasas granulocitarias.

El endotelio lesionado o estimulado cambia sus propiedades desde un estado profibrinolítico y anticoagulante normal a un estado procoagulante y antifibrinolítico: expresión de factor tisular (FT), disminución de la trombomodulina, liberación del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI), liberación de factor activador de plaquetas endotelina y factor Von Willebrand, y

disminución en la síntesis de óxido nítrico. La expresión del subendotelio a la sangre produce adhesión y agregación plaquetaria y pone en marcha los mecanismos de la coagulación<sup>55</sup>. Aspectos hematológicos en la sepsis grave. La endotoxina por la acción de la IL-1y el TNF- $\alpha$ , incrementa la adhesión de granulocitos y monocitos al endotelio capilar, los cuales al liberar enzimas proteolíticas y radicales libres de oxígeno amplifican la lesión tisular y el daño endotelial,



**Figura 5.-** Fracaso orgánico y disfunción del endotelio vascular y la mitocondria en la sepsis grave. Tomado de Angus DC et al<sup>1</sup>.

Nos encontramos por tanto ante una compleja interacción entre la respuesta

inflamatoria y la de la coagulación. Como ya hemos señalado, varios de los mediadores inflamatorios son responsables de la activación de la coagulación y algunos elementos de las vías de la coagulación, como veremos posteriormente, tienen propiedades inflamatorias<sup>56</sup>.

La activación masiva y descontrolada de la coagulación, tras la agresión por un agente infeccioso y amplificada por la respuesta inflamatoria, junto con la disminución de los anticoagulantes naturales y de la actividad fibrinolítica conlleva a una oclusión trombótica de la microcirculación por depósitos de fibrina. La formación de trombos resulta en hipoperfusión tisular, disfunción de órganos y en último término en muerte. Esta respuesta que se conoce como coagulación intravascular diseminada (CID) o coagulopatía de consumo, tiene su máxima expresión en forma de fenómenos hemorrágicos, trombóticos y/o fracaso de órgano (Figura 5).

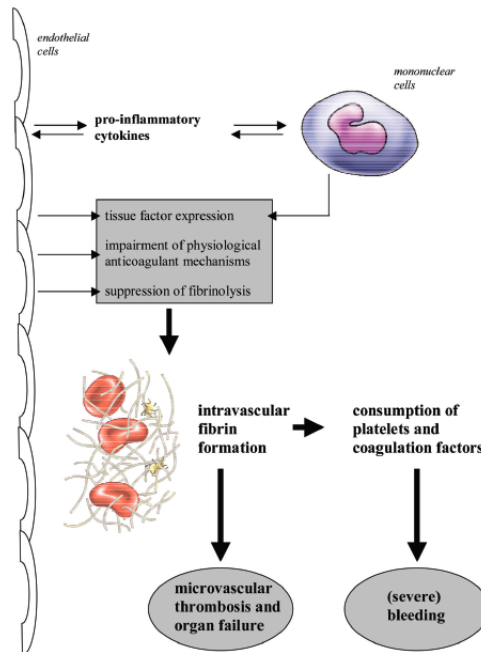
#### 2.2.1.- ALTERACIONES DE LA COAGULACIÓN EN LA SEPSIS.

Las alteraciones más destacadas de la coagulopatía en la sepsis las podemos agrupar en cuatro aspectos básicos (Figura 6):

##### 2.2.1.1.- Aumento de la activación de la coagulación:

El factor tisular (FT) expresado en el endotelio vascular lesionado es el mecanismo inicial y crucial para la activación de la coagulación en los pacientes sépticos, seguido de la generación de trombina y la formación de fibrina. El aumento de la expresión del FT tanto en el endotelio como en células mononucleares inducido por las endotoxinas bacterianas o mediante la liberación de citoquinas, desencadena la vía extrínseca de la coagulación y contribuye a favorecer un estado de coagulación generalizada. El FT activado por las citoquinas

es capaz de actuar sobre los otros componentes de la hemostasia a través de un factor pivote, el factor VIIa.



**Figura 6.-** Representación de la activación de la coagulación durante la respuesta inflamatoria sistémica. Las citoquinas pro-inflamatorias activan las células monocelulares y las células endoteliales (las cuales también pueden producir citoquinas). Las células monocelulares y endoteliales expresan en su superficie el factor tisular, mecanismo inicial de la activación de la coagulación. De forma simultánea se produce una disfunción de los mecanismos anticoagulantes fisiológicos y la fibrinólisis endógena debida a una disminución en la regulación de las proteínas ligadas al endotelio y una alteración de las células endoteliales, provocando un aumento en la formación y depósito intravascular de fibrina, responsable del fallo orgánico. Al mismo tiempo, el consumo de plaquetas y de los factores de la coagulación pueden causar graves sangrados. Tomado de Levi M y cols<sup>59</sup>.

A su vez, la vía intrínseca también desencadena la cascada de la coagulación por acción directa de los LPS sobre el factor de Hageman<sup>57</sup>. Ambas

vías confluyen en la activación del factor X (Xa), que transforma la protrombina en trombina. La trombina se une a la trombomodulina, proteína inhibidora del estado procoagulante en la microcirculación. Esta interacción bloquea la unión del fibrinógeno, plaquetas y factor V a la trombomodulina y a su vez, el complejo trombina-trombomodulina activa a la proteína C. La trombina generada es rápidamente removida de la microcirculación por la trombomodulina. En la sepsis, la trombina, además de transformar el fibrinógeno en fibrina, también actúa directamente como un factor proinflamatorio, mediando la expresión de moléculas de adhesión y como factor quimiotáctico directa para los polimorfonucleares, los cuales acentúan la lesión a nivel tisular por la liberación de enzimas proteolíticas, fundamentalmente la elastasa que tiene la capacidad de inactivar al inhibidor de la AT III. Consecuencia de la generación de trombina se activan las vías anticoagulantes fisiológicas, que protegen la microvascularización del estrés hemostático e inflamatorio.

#### 2.2.1.2.- Consumo de los mecanismos inhibidores de la coagulación:

Una de las características de la sepsis es la disminución en los niveles de anticoagulantes naturales: Antitrombina III (AT), Proteína C (PC) e inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI).

**A) Antitrombina III:** glucoproteína de cadena única, que se sintetiza en el hígado, con una semivida de 2 a 3 días. Es un potente inhibidor de las serín proteasas, capaz de unirse a la mayoría de las enzimas de la coagulación e inhibirlas, en especial a la trombina. Además de sus efectos anticoagulantes, AT III también posee una actividad antiinflamatoria ya que mediante la liberación de prostaciclina (PGI-2), disminuye la producción de TNF- $\alpha$  y de radicales libres por los neutrófilos, inhibe la agregación plaquetar y tiene un efecto vasodilatador.

Los niveles plasmáticos de AT generalmente disminuyen en un paciente con sepsis consecuencia de la combinación de un consumo excesivo resultado del aumento en la generación de trombina, la degradación por elastasas liberadas por los neutrófilos activados y la disminución de su síntesis consecuencia de una disfunción hepática.

**B) Sistema de la Proteína C:** la proteína C es una proteína plasmática vitamina K dependiente, sintetizada en el hígado y un importante inhibidor de los factores Va y VIIa. Su activación tiene lugar al unirse la trombina a la trombomodulina, una glucoproteína transmembrana presente en las células del endotelio vascular y este complejo trombina-trombomodulina cataliza la activación de la proteína C a proteína C activada (PCA). Este proceso es acelerado si sucede en la proximidad de otra proteína de membrana, el receptor endotelial de proteína C (EPCR).

La proteína C activada (PCA), en estados de sepsis y respuesta inflamatoria sistémica es uno de los principales reguladores de flujo y de la función endotelial por su acción: antitrombótica al hidrolizar y neutralizar el FVa y el FVIIIa, limitando así la formación de trombina; profibrinolítica al inactivar el inhibidor 1 del activador tisular del plasminógeno (PAI-1) e indirectamente al disminuir la formación de trombina se reduce la activación del inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFI); y antiinflamatoria al limitar de forma indirecta la formación de trombina, sustancia proinflamatoria.

El sistema de la proteína C, importante para mantener una hemostasia normal, es disfuncionante en la sepsis. Los niveles de proteína C se encuentran disminuidos en más del 80% de estos pacientes, con una concentración 40% menor a lo normal (4000-5000 ng/ml). Este descenso es debido a una menor síntesis hepática de la PC por acción de los reactantes de fase aguda, la disfunción hepática durante la sepsis y la deficiencia adquirida de la vitamina K. Existe además una reducción de la conversión de PC en PCA debido a la menor expresión de la

trombomodulina, principal mediador de la actividad de la Proteína C, en las células endoteliales por mediación de las endotoxinas y citoquinas pro-inflamatorias como el TNF- $\alpha$  y la IL-1<sup>58</sup>. Al encontrarse los niveles de PC disminuidos, esta vía resulta ineficaz en su acción inhibitoria sobre el factor Va y el factor VIIIa.

La importancia de esta proteína ha sido demostrada en numerosos estudios y en un ensayo clínico, constatando que la infusión de PCA recombinante mejora la supervivencia de los pacientes con sepsis grave.

**C) Proteína S:** La proteína S es un cofactor necesario para que la PC ejerza su potencia inhibitoria. Es también una proteína vitamina K dependiente, que se encuentra unida en un 60% a la fracción C4bBP del complemento, y sólo la fracción libre del cofactor presenta actividad enzimática. Dado que la fracción C4bBP está aumentada en la sepsis, originando un déficit relativo de PS y la consiguiente disfunción del sistema PC-PS. Por otro lado, el TNF- $\alpha$  puede inhibir la síntesis endotelial de PS.

**D) El inhibidor del FT (TFPI, the tissue factor pathway inhibitor):** Se trata de un inhibidor de serinproteasas liberado por las células endoteliales y las plaquetas que tras formar un primer complejo con el FXa, interacciona con el complejo FT-VIIa inhibiendo su actividad enzimática. Los efectos beneficiosos observados en estudios animales, pueden ser debidos a su efecto atenuante de la generación de IL-6 y a su capacidad para unirse a la endotoxina e interferir en el bloqueo de la vía procoagulante desencadenada por la endotoxina<sup>55</sup>. Sus niveles mantienen una estrecha relación con la severidad de la sepsis, tanto de la CID, como del número de órganos disfuncionantes. Se ha observado que niveles plasmáticos de TFPI más elevados tienen mejor pronóstico, sugiriendo un papel protector en los pacientes sépticos<sup>58</sup>.



**E) La prostaciclina:** trombina dependiente. Disminuye la agregación plaquetaria por disminución de la unión fibrinógeno-plaquetas al producir un descenso en la expresión de la glicoproteína IIb-IIIa en la superficie plaquetar.

#### 2.2.1.3.- Bloqueo del sistema fibrinolítico:

La respuesta inicial en la bacteriemia y en la endotoxemia es un aumento de la activación fibrinolítica, mediada por la liberación casi inmediata del activador tisular del plasminógeno (t-PA), responsable del 90% de la activación del plasminógeno que se produce en condiciones fisiológicas. El t-PA interacciona con la superficie del coágulo de fibrina facilitando la conversión del plasminógeno en plasmina. En los procesos sépticos, el proceso de la fibrinólisis tiene una duración corta y rápidamente es suprimida por un aumento mantenido del principal inhibidor de la fibrinólisis, el inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1), que bloquea la generación de plasmina y contribuye al depósito de fibrina en la microcirculación<sup>55</sup>. Nos encontramos por tanto, con una primera respuesta de hiperfibrinólisis, que intenta reparar y eliminar el depósito de fibrina establecido, que se continúa con una hipofibrinólisis secundaria al bloqueo del sistema fibrinolítico, consecuencia del consumo del activador t-PA y del predominio del inhibidor PAI-1.

La plasmina produce fragmentos específicos conocidos como productos de degradación de la fibrina (PDF). Estos PDF tienen un marcado efecto antitrombótico, siendo capaces de inhibir la polimerización de los monómeros de fibrina e interferir con la acción de las plaquetas. Estos efectos son tan importantes que la acumulación de PDF en la circulación puede llegar a comprometer seriamente la hemostasia.

#### 2.2.1.4.- Disfunción plaquetaria por diversos mecanismos:

Una de las alteraciones más precoces en la sepsis es la presencia de trombopenia, con un número inferior a 100.000 cel/mm<sup>3</sup>, llegando a cifras inferiores a 50.000ccel/mm<sup>3</sup>. La causa fundamental es una destrucción plaquetar en el espacio microvascular con secuestro en diferentes órganos, fundamentalmente hígado y pulmón y de manera especial en el intestino<sup>59</sup>. El aumento en la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las plaquetas, fundamentalmente glicoproteínas IIb-IIIa, junto con la liberación por parte del endotelio del factor activador de plaquetas, juega un papel fundamental en el proceso de formación del trombo, cuyo resultado final es la adhesión y agregación plaquetaria no sólo entre sí, sino al endotelio y a los neutrófilos, facilitando la formación de agregados de plaquetas y leucocitos circulantes, que contribuyen a obstruir la microcirculación.

#### 2.2.2.- MARCADORES DE LA COAGULACIÓN EN LA SEPSIS GRAVE Y SHOCK SÉPTICO.

La condición dinámica de la coagulopatía en la sepsis, la variabilidad de su presentación clínica y la falta de sensibilidad y especificidad de los parámetros de laboratorio utilizados para el diagnóstico, dificultan la detección de la CID en las fases precoces, frecuentemente asintomáticas<sup>60</sup>.

Los parámetros de laboratorio que podemos encontrar alterados en el paciente séptico son:

- El recuento disminuido de plaquetas en sangre: Trombopenia.
- Los indicadores de activación de la coagulación: descenso de factores de la coagulación (fibrinógeno, V, VIII y II), aumento en los niveles plasmáticos

de los fragmentos 1 y 2 de la protrombina, fibrinopéptidos A y B del fibrinógeno, complejos trombina-antitrombina y fibrina soluble.

- Indicadores de acción fibrinolítica: aumento en los niveles plasmáticos de complejos plasmina-antiplasmina (PAP), plasmina, elevación del Dímero-D (DD), productos de degradación de fibrinógeno (PDF), PAI-1.
- Consumo de inhibidores de coagulación (descenso de ATIII, proteína C y S, TFPI).

De los parámetros anteriores, los más utilizados de forma rutinaria en los casos de sospecha de coagulopatía de consumo o CID en la sepsis son: el recuento de plaquetas en sangre, TP, TTPA, niveles de PDF, DD y fibrinógeno. Dentro de los marcadores de activación de la fibrinólisis, el DD se considera más sensible y específico ya que determina exclusivamente la fibrina degradada por la plasmina, mientras que los PDF se producen cuando tanto el fibrinógeno como la fibrina son digeridos por la plasmina. Si tenemos en cuenta que los PDF son metabolizados por el hígado y eliminados por el riñón, sus niveles van a estar además influenciados tanto por la función hepática como renal.

El SSC/ISTH (Scientific Subcommittee on DIC of the International Society on Trombosis and Haemostasis) propuso un score para la CID declarada, que incluye: disminución en el número de plaquetas, aumento de los marcadores de fibrina (dímero D de preferencia), prolongación del TP y TTPA y disminución del fibrinógeno (tabla 10).

El diagnóstico de CID se puede obtener utilizando un score simple que utiliza los parámetros anteriores, con una sensibilidad del 93% y una especificidad del 98%. considerado como un predictor independiente de mortalidad en diversos estudios realizados en pacientes con sepsis severa<sup>59</sup>.

Diversos estudios han demostrado que la presencia de trombopenia y niveles elevados de productos de degradación de la fibrina o dímeros D se correlacionan con la mortalidad<sup>61</sup>, y aunque sólo un 20% de los pacientes con

sepsis grave presentan coagulación intravascular diseminada manifiesta, casi todos tienen concentraciones elevadas de dímero D y alteraciones de la proteína C. A su vez, el descenso en los factores de la coagulación es utilizado como un marcador proporcional de activación de la coagulación para el diagnóstico de CID<sup>56</sup>.

Parámetro de coagulación	Valor	Puntuación
<b>Cifra de plaquetas</b>	> 100 x 10 <sup>9</sup> /l	0
	< 100 x 10 <sup>9</sup> /l	1
	< 50 x 10 <sup>9</sup> /l	2
<b>Marcador de fibrinólisis (PDF, Dímeros-D, monómeros de fibrina)</b>	No elevados	0
	Elevación moderada	2
	Elevación intensa	3
<b>Tiempo de protrombina (TP)</b>	< 3 seg	0
	> 3 seg < 6 seg	1
	> 6 seg	2
<b>Niveles de fibrinógeno</b>	> 100 mg/dl	0
	< 100 mg/dl	1

**Tabla 10.- SSC/ISTH Score para CID declarada. Puntuación ≥ 5: CID declarada; si < 5 CID no declarada.**

Se han considerado algunos marcadores para valorar la activación y el daño endotelial en la sepsis, como los niveles de factor de Von Willebrand, de trombomodulina, proteína C, antitrombina III y niveles de IL-6, que podrían ayudar a valorar la gravedad de la disfunción orgánica, el curso del proceso séptico y el pronóstico<sup>62</sup>.

Así mismo, se han desarrollado múltiples líneas terapéuticas encaminadas a modular la respuesta inflamatoria, controlar la activación de la cascada de la

coagulación y la fibrinólisis, aunque ninguna de ellas ha demostrado claramente disminuir la mortalidad en pacientes sépticos.

En los últimos años múltiples estudios han valorado las alteraciones de la coagulación en la sepsis y durante el curso de la enfermedad. Entre ellos, el estudio de Dhainaut y col<sup>63</sup> que evaluó la relación temporal entre marcadores de la coagulación y el FMO, y la consecuente mortalidad observando que la persistencia o empeoramiento de la coagulopatía tras el primer día de la sepsis grave, se correlacionaba con la progresión de nuevos fallos orgánicos y un incremento de la mortalidad a los 28 días.

Los niveles plasmáticos de AT III también han sido correlacionados con la mortalidad en la sepsis. Niveles plasmáticos inferiores al 60% de los valores normales se acompañan de una mortalidad superior al 90%. Fourrier et al<sup>64</sup> estudiaron los niveles iniciales y secuenciales de varios factores de la coagulación, incluyendo la AT III, en 60 pacientes con shock séptico. Un descenso de los niveles de AT III a menos del 50% predecía la muerte posterior con una sensibilidad del 96% y una especificidad del 76%. Estos niveles se correlacionaban con los niveles de PC de forma significativa en los pacientes que fallecían. Se han realizado diversos estudios controlados aleatorizados con placebo en pacientes con sepsis grave y trastornos de la coagulación, donde la administración de AT III tenía efectos positivos tanto sobre la coagulación como sobre la función orgánica<sup>65</sup> y mejoraba de forma significativa el desenlace de la CID inducida por sepsis<sup>66</sup>. El metaanálisis de 122 pacientes, basado en la población de la intención de tratar de tres ensayos, confirmó los hallazgos positivos en la sepsis. Los autores encontraron una reducción relativa del 22,9% de la mortalidad por todas las causas al cabo de 30 días<sup>67</sup>.

El descenso de PC es precoz y precede a la clínica de sepsis grave y shock séptico. Se han constatado niveles de bajos de PC en el momento del diagnóstico de la sepsis grave, incluso cuando los niveles de TP, TTPA, plaquetas y

fibrinógeno son normales, lo que sugiere que el consumo de PC es un fenómeno patológico en el desarrollo de la sepsis grave.

En diferentes estudios, se ha demostrado una correlación inversa entre el nivel de PC y la morbi-mortalidad asociada a la sepsis<sup>68</sup>. Los niveles basales de PC y el descenso de estos niveles después del primer día de evolución de la sepsis son un

predictor independiente de mortalidad como se observó en un grupo de pacientes incluidos en el estudio PROWESS<sup>69</sup>. Estos niveles de PC disminuidos en pacientes con sepsis empezaban a recuperarse a partir del cuarto día de inicio del cuadro consiguiendo retornar a la normalidad en aquellos pacientes que sobrevivían<sup>68</sup>.

Además de la trombopenia presente en los pacientes sépticos, la función plaquetar también puede afectarse<sup>70</sup>. La mayor parte de los estudios publicados muestran una disminución en la agregabilidad plaquetar, que puede verse alterada a su vez por el número de plaquetas, aunque mantienen preservadas las moléculas de adhesión y un aumento en la liberación del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), lo que sugiere que la sepsis induce una redistribución de la función de las plaquetas de la hemostasia hacia otras funciones, incluyendo la cicatrización vascular<sup>70</sup>. Estudios que han evaluado la agregación plaquetar en pacientes sépticos, han observado un gran deterioro en comparación con controles sanos, aunque sin obtener diferencias significativas entre los pacientes que fallecían respecto a los que sobrevivían<sup>71</sup>.

### 2.2.3.- HOMOCISTEÍNA EN LA SEPSIS GRAVE.

La homocisteína es un aminoácido azufrado que se forma a partir de la metionina, aminoácido esencial, cuya única fuente de ingreso es por la ingesta a partir de proteínas de origen animal. La homocisteína se origina a partir de la desmetilación sucesiva de la metionina, inicialmente es desmetilada a S-

adenosilmetionina (SAM) y luego cede su grupo metilo en una reacción catalizada por una metil-transferasa y da lugar a la S-adenosilhomocisteína, la cual se desprende por hidrólisis de la adenosina, y se obtiene homocisteína libre. La HCY es metabolizada por dos vías: vía de la transulfuración, para ser secretada como sulfato en la orina, o vía de la remetilación, cuando se requiere conservar la metionina<sup>72</sup>.

Aproximadamente del 70 a 80% de la HCY circulante lo hace unida a proteínas (albúmina), constituyendo el resto su fracción libre. La homocisteína no ligada a proteínas es filtrada en los glomérulos renales, y la mayor parte es reabsorbida en los túbulos renales, por lo que sólo muy pequeñas cantidades se secretan por la orina.

En el laboratorio se mide la homocisteína total que comprende la homocisteína unida a proteínas (70-90%), la homocisteína libre (5-10%) y sólo alrededor del 1% la homocisteína reducida.

Las concentraciones plasmáticas tienen un rango de 5 a 15  $\mu\text{mol/l}$ . Los valores se elevan con la edad y tienden a ser mayores en los hombres. También se observa un aumento de los niveles plasmáticos en pacientes con fracaso renal crónico, y, aunque el mecanismo no está claro se piensa que se debe a una disminución del aclaramiento y metabolización renal de la misma. Las personas con hiperhomocisteinemia son aquellas con valores en ayunas superiores a 14  $\mu\text{mol/l}$ . El aumento se clasifica en moderado (10 ó 15 a 30  $\mu\text{mol/l}$ ), intermedio (31 a 100  $\mu\text{mol/l}$ ) y grave ( $> 100 \mu\text{mol/l}$ )<sup>73</sup>.

Niveles elevados de homocisteína han sido implicados como factores de riesgo cardiovascular y cerebrovascular y, en enfermedades de activación inmunitaria, enfermedades neurodegenerativas y enfermedades malignas.

La hiperhomocisteinemia se puede deber a déficits nutricionales, un empeoramiento de la función renal y variaciones genéticas de las enzimas de la vía metabólica de la homocisteína. Se ha observado una correlación negativa entre los

niveles de vitamina B6, B12 y ácido fólico y los valores plasmáticos de homocisteína, debido a la participación de los cofactores de estas vitaminas en las dos principales vías metabólicas de la homocisteína.

Existe una gran evidencia del papel de la hiperhomocisteinemia en la enfermedad coronaria y otras enfermedades en las que existe oclusión arterial. Por otro lado, la inflamación juega un papel crucial en la patogénesis de la aterosclerosis, en su inicio, progresión y complicaciones tromboticas. Estudios experimentales han demostrado que la infusión de homocisteína en modelos animales provocan un daño en el endotelio vascular, sobre el músculo liso, inducen una actividad procoagulante y síntesis de colágeno y aumentan el estrés oxidativo. Además, un aumento en los niveles de HCY puede empeorar la vasodilatación dependiente del endotelio y estimular la síntesis de varias citoquinas proinflamatorias en la pared arterial y en las células circulantes<sup>74</sup>.

La homocisteína ejerce su efecto procoagulante por inhibición de la actividad de la trombomodulina y, por inactivación de la proteína C y de la AT III. Además, potencia la agregación plaquetar e induce la expresión del factor tisular de los monocitos, principal activador de la cascada de la coagulación y del factor V, provocando una reacción inflamatoria en la pared vascular y la liberación de citoquinas proinflamatorias<sup>75</sup>.

La HCY es perjudicial para las células endoteliales vasculares por alterar la función celular normal. Varios estudios han demostrado que HCY determina la disfunción endotelial aguda y crónica promoviendo la producción de peróxido de hidrógeno y otras especies reactivas de oxígeno, que, a su vez, son capaces de reaccionar con y disminuir la disponibilidad del óxido nítrico endotelial produciendo peroxinitrito y limitando la respuesta vasodilatadora. Una disminución de la biodisponibilidad de ON aumenta la expresión de la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1), lo que aumenta el reclutamiento de monocitos a nivel intravascular e induce la activación de leucocitos con la producción consiguiente



de citoquinas (Il-6, Il-8 y TNF- $\alpha$ ) y la liberación de factores procoagulantes que aceleran la formación de lesión aterosclerótica.

Del mismo modo que la HCY estimula la actividad inflamatoria, los niveles de HCY pueden estar influenciados por la activación del proceso inflamatorio. El daño tisular que se produce en la respuesta inflamatoria, acelera las reacciones de remetilación de DNA, RNA y varias proteínas para la reparación tisular, generando S-adenosilhomocisteína y liberando HCY. Debido a que el ácido fólico es esencial en el metabolismo de la HCY, el aumento en la demanda de ácido fólico que se produce en los procesos inflamatorios produciría una elevación secundaria en los niveles de HCY<sup>74, 76</sup>.

Diversos estudios han sido publicados, relacionando los niveles de homocisteína con la enfermedad cardiovascular y cerebrovascular, siendo la homocisteína incluida como uno de los factores de riesgo para producir enfermedad cardiovascular por el Colegio Americano de Cardiología. Sin embargo, existe poca evidencia en la literatura del papel de la homocisteína en la fisiopatología de los pacientes con sepsis. Como hemos visto anteriormente, la fisiopatología de la aterosclerosis implica un daño endotelial relacionado con el estrés oxidativo, la trombogénesis y los cambios endoteliales. De igual forma, la lesión endotelial tiene un papel fundamental en la fisiopatología de la sepsis y la disfunción multiorgánica. En este sentido, y considerando la sepsis como un estado hipermetabólico, pro-inflamatorio y pro-trombótico, Coelho y col estudiaron los niveles plasmáticos de homocisteína en pacientes sépticos, y su relación con la mortalidad y la disfunción orgánica en pacientes sépticos<sup>77</sup>.

Se han estudiado los niveles plasmáticos de homocisteína con indicadores de la peroxidación lipídica (MDA) y el óxido nítrico en pacientes con enfermedad cardiovascular<sup>78</sup>, observando una buena correlación entre ellos, lo que sugiere que la hiperhomocisteinemia podría ser un factor en la generación de radicales libres y por tanto, de la enfermedad cardiovascular.

#### **IV.- LA OXIGENACIÓN TISULAR EN LA SEPSIS.**

Una de las principales funciones del sistema cardiovascular es proporcionar un aporte continuo de nutrientes a los tejidos, fundamentalmente sustratos oxidativos y oxígeno para mantener la vida. El mantenimiento de la función normal de los órganos y de los tejidos, exige un balance adecuado entre la demanda de oxígeno y la cantidad de oxígeno que se oferta, y este balance se consigue gracias a la regulación del sistema circulatorio tanto a nivel central como local. Los factores centrales inducen una redistribución del flujo sanguíneo, lo que permite que el flujo se desplace a aquellos órganos con una situación de reserva menor. A nivel local, se produce un aumento en la liberación de sustancias vasodilatadoras locales, aumentando el porcentaje de capilares perfundidos. Las células endoteliales se comportan como sensores funcionales de oxígeno, liberando potentes vasodilatadores como la prostaciclina, el óxido nítrico o el factor hiperpolarizante dependiente del endotelio, en respuesta al descenso en la tensión de oxígeno.

La alteración de los mecanismos de autorregulación y por tanto la funcionalidad de la microcirculación, es el factor que define la fisiopatología de la sepsis. El desequilibrio entre el tono vasoconstrictor y el vasodilatador parece ser la base del defecto de extracción de oxígeno que caracteriza al shock séptico<sup>79</sup>.

La disfunción de la microcirculación se caracteriza por alteraciones heterogéneas en el flujo sanguíneo, con capilares hipoperfundidos y otros con flujo anormalmente alto. Las unidades vulnerables de la microcirculación llegan a ser hipóxicas, y esto explica el déficit de extracción de oxígeno (EO<sub>2</sub>) asociado a la sepsis; la PpO<sub>2</sub> cae por debajo de la pO<sub>2</sub> venosa, y esta diferencia es lo que se conoce como gap de pO<sub>2</sub>, que supone una medida de severidad del shunt funcional. En la sepsis las células endoteliales de la microcirculación tienen menos capacidad de realizar su función de regulación, debido a las alteraciones en las vías de

transducción y por la pérdida de comunicación electrofisiológica y el control del músculo. El sistema del óxido nítrico, componente fundamental de la autorregulación, presenta un aumento en la expresión de la enzima inducible óxido nítrico sintetasa (iNOS) en diferentes áreas, por lo que se pierde la capacidad de vasodilatación y los tejidos llegan a estar poco perfundidos. Esto, junto con la alteración de la coagulación en la sepsis y la formación de trombos en la microcirculación, impide aún más la perfusión y función de la microcirculación. Por otro lado, la activación de los leucocitos por la inflamación genera especies reactivas de oxígeno que directamente alteran las estructuras de la microcirculación, las interacciones celulares y la función de la coagulación. Estos y otros mediadores de la inflamación, darán como resultado una alteración de la función de barrera de la microcirculación, incluyendo la unión intercelular y posiblemente el glicocalix endotelial, conduciendo a edema tisular y mayor aumento en el déficit de  $EO_2$ .

El distrés regional tisular causado por la disfunción de la microcirculación y la depresión mitocondrial (MMDS) subyace a la sepsis y el shock, donde a pesar de la corrección de las variables de aporte de oxígeno, la hipoxia tisular y el déficit de la extracción de oxígeno persisten.

## **1.- MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LAS ALTERACIONES DE LA MICROCIRCULACIÓN EN LA SEPSIS SEVERA:**

El flujo sanguíneo de la microcirculación juega un papel clave en el desarrollo de las manifestaciones clínicas de la sepsis severa y el shock séptico.

Aunque el perfil hemodinámico y el control clínico del paciente séptico se caracterizan en términos de parámetros de hemodinámica global, es la microcirculación la responsable del aporte del flujo sanguíneo desde el sistema cardiovascular a los tejidos.

La distorsión entre el aporte y la demanda de oxígeno se traduce clínicamente por hipotensión, oliguria e hipoperfusión cutánea y bioquímicamente por acidosis láctica debida a glucolisis anaerobia. Durante las primeras fases de la adaptación orgánica a la agresión, la disminución del volumen intravascular o la disminución del índice cardíaco, estimulan los barorreceptores produciendo la liberación de Angiotensina II, que provoca una vasoconstricción intensa, más selectiva sobre el territorio esplácnico con aumento de las resistencias periféricas y redistribución del volumen circulante hacia los órganos vitales. Cuando la disminución del flujo sanguíneo esplácnico se prolonga o llega a valores críticos, disminuye el aporte de oxígeno al intestino ( $GDO_2$ ) con el consiguiente aumento del lactato regional. Esta disminución del  $GDO_2$  es mucho más rápido en la sepsis debido a un aumento adicional de la demanda y/o una incapacidad para la extracción de  $O_2$ . Esta situación recibe el nombre de Shock compensado o shock oculto, ya que la TA, diuresis, perfusión cutánea y gases sanguíneos son normales.

Tras lograr la restauración del soporte hemodinámica en el paciente séptico, con una PA aceptable, el médico puede falsamente pensar que el paciente está estable. Sin embargo, hay un millón de posibles mecanismos patogénicos que están ocurriendo en la microcirculación y que son difíciles de detectar por los mecanismos convencionales, y de alguna manera ocultas para el médico.

Por tanto, el paciente séptico, presenta un tipo particular de insuficiencia circulatoria que se caracteriza por una alteración de las capacidades de extracción de oxígeno en presencia de un aumento de la demanda de oxígeno. Aunque la sepsis grave se caracteriza por un estado hiperdinámico, con aumento del aporte de oxígeno, esto no siempre es suficiente, pudiendo existir hipoxia celular, incluso cuando el gasto cardíaco es normal o elevado<sup>80</sup>. A las alteraciones en la extracción de oxígeno, pueden sumarse la depresión miocárdica producida por los mediadores inflamatorios que pueden limitar aún más el aporte de oxígeno a los tejidos, y de la que hablaremos posteriormente con más detalle<sup>81, 82</sup>.

En la clínica, el shock se reconoce, diagnostica y, con frecuencia, se trata basándose en signos y síntomas subjetivos, como un pulso filiforme y débil, superficie cutánea viscosa y fría, alteración del estado mental, presión arterial inestable, cianosis periférica y/o central, agitación y aparición de petequias en la superficie cutánea. Desgraciadamente, la aparición de hipotensión y otros signos de shock no se corresponden con el comienzo de la insuficiencia circulatoria, sino que, por el contrario, representan la descompensación o el fracaso de los mecanismos compensadores para mantener la tensión arterial. Indudablemente, para valorar una insuficiencia circulatoria aguda debe utilizarse la función circulatoria, pero sobre la base de las variables hemodinámicas y del transporte de oxígeno, y no de las manifestaciones secundarias y terciarias del síndrome.

En este sentido, la saturación venosa medida al nivel de la arteria pulmonar (AP) o a nivel de la aurícula derecha, saturación venosa mixta de O<sub>2</sub> (SvO<sub>2</sub>), se ha utilizado como un índice de adecuada perfusión y oxigenación tisular<sup>83</sup>.

Desde que se inició el estudio del shock, hace tres décadas, la importancia del balance del transporte de oxígeno ha aumentado de forma progresiva.

Los objetivos en la resucitación del shock, han cambiado a lo largo de los años. La eficacia de una resucitación precoz guiada por objetivos, entre ellos el mantenimiento de una SvcO<sub>2</sub> > 70%, es un determinante fundamental en la supervivencia<sup>84</sup> y forma parte de unos de los paquetes de medidas a cumplimentar en las primeras 6 horas en las guías de la Surviving Sepsis Campaign<sup>85, 86</sup>. El objetivo es mejorar la utilización de oxígeno por los tejidos, cuando aumenta el consumo y aumentan las necesidades. El logro de estos objetivos es valorado mediante el aclaramiento o la producción de marcadores de metabolismo anaerobio; el marcador más ampliamente utilizado ha sido el exceso de lactato.

Elevaciones en el lactato sérico total, pueden interpretarse como el resultado de un metabolismo anaerobio, de escasa eliminación hepática del mismo o bien como la manifestación del lavado de lactato tras la reperfusión. La vida

media del lactato en condiciones normales es de 2-4 horas. Sin embargo, el cambio en la SvO<sub>2</sub> que sigue tras la reperfusión de tejidos hipoperfundidos, se produce en pocos minutos. El hallazgo de una elevación del lactato sérico, junto a una SvO<sub>2</sub> normal o elevada, implica la sospecha de lavado de lactato en tejidos previamente hipoperfundidos, con aclaramiento débil de lactato o glicolisis anaerobia. La maximización del consumo de oxígeno para reestablecer la perfusión óptima tisular, necesita de la optimización del balance entre demanda y aporte, y la monitorización de la SvO<sub>2</sub>, puede mejorar la eficiencia de este proceso.

### **1.1.- SATURACIÓN VENOSA DE OXÍGENO:**

Hay cuatro determinantes de la SvO<sub>2</sub>: la saturación arterial de oxígeno (SaO<sub>2</sub>), la concentración de hemoglobina (Hb), el gasto cardíaco (GC), y el consumo de oxígeno (VO<sub>2</sub>). Los tejidos normalmente utilizan un 25% del aporte de oxígeno, con una SvO<sub>2</sub> de 75% (en un paciente con una SaO<sub>2</sub> normal). Disminuciones en el consumo o un aumento en el aporte, que no sean compensados por los mecanismos reguladores, provocan una elevación de la SvO<sub>2</sub>. Del mismo modo, incrementos en el consumo o disminuciones en el aporte no compensados, disminuirán la SvO<sub>2</sub><sup>87</sup>.

Cuando se resuelve la ecuación de Fick para la SvO<sub>2</sub>, se ve claramente como la SvO<sub>2</sub> define el gasto cardíaco adecuado para transportar el volumen de oxígeno necesario según las necesidades<sup>87</sup>. El único momento en que la SvO<sub>2</sub> sería equiparable al GC, sería cuando la SaO<sub>2</sub>, la concentración de hemoglobina y el consumo de oxígeno se mantienen sin cambios.

Un cambio en la SvO<sub>2</sub> alerta al clínico de que el balance entre el aporte/demanda de oxígeno ha cambiado. La medida de la SvO<sub>2</sub>, puede determinar el momento de realizar otras medidas de transporte de oxígeno. Ayudará a

minimizar las mediciones innecesarias de transporte de oxígeno en pacientes estables o indicará si estas son realmente necesarias.

La SvO<sub>2</sub> es un indicador sensible pero no específico del balance que ocurre entre el aporte y la demanda de oxígeno. Es la media de la cantidad de flujo de todos los lechos vasculares perfundidos; no define la adecuación del balance en un solo lecho, sino en su totalidad.

Así pues, la medición de la SvO<sub>2</sub> se ha propuesto como un elemento esencial para el cuidado del paciente crítico<sup>88</sup>. Sin embargo, la SvO<sub>2</sub> como reflejo que es de la perfusión global de todo el organismo, puede resultar inadecuada como guía de tratamiento en algunos enfermos, al no reflejar el estado de la perfusión regional, pudiendo realizarse una valoración errónea de la situación clínica real de algunos pacientes críticamente enfermos.

## **1.2.- SIGNIFICADO DE HIPERLACTACIDEMIA:**

La concentración normal de lactato en sangre en pacientes no estresados es de  $1 \pm 0,5$  mmol/l (1 mmol/l equivale aproximadamente a 9 mg/dl). En los pacientes críticos los cuales suelen tener una activación neuroendocrina y metabólica que incrementa la producción y el recambio de lactato, se consideran valores normales de éste a las concentraciones sanguíneas inferiores a 2 mmol/l. Aunque la producción diaria de lactato es muy elevada (1500 mmol/l) sus niveles plasmáticos dependen del balance entre su producción y eliminación. En condiciones fisiológicas el lactato es producido por los músculos, piel, cerebro, intestino y hematíes y es principalmente metabolizado por el hígado y el riñón.

Aunque hay muchas causas de hiperlactacidemia, la etiología más común es la hipoxia tisular global. En la mayor parte de los casos se debe a un fracaso global de la perfusión, como en el shock, aunque la hipoxemia o anemia también pueden resultar en un aumento de los niveles de lactato.

La magnitud de la lactacidemia refleja la gravedad de la hipoperfusión y se relaciona directamente con la mortalidad. Numerosos estudios han demostrado una correlación entre los niveles de lactato y la mortalidad hospitalaria<sup>89</sup>. La acidosis metabólica de relevancia clínica y que marca un peor pronóstico cursa con una concentración de lactato sanguíneo  $\geq 4$  mmol/l<sup>90</sup>. Cuando el lactato está elevado, la concentración se correlaciona con la extensión, el grado y la duración del daño hipóxico. Si el daño se puede revertir rápidamente, cabe esperar que los niveles de lactato también desciendan<sup>91</sup>. Las elevaciones que empeoran o persisten indican que la hipoxia continua, por lo que el control de los niveles antes y después de cualquier maniobra terapéutica puede indicar si tiene algún efecto favorable<sup>92</sup>.

La biocinética del lactato también se emplea como marcador pronóstico en la sepsis, ayudando a valorar la respuesta terapéutica en el shock, considerando una buena respuesta, la reducción de  $> 5\%$  de la cifra inicial a la hora de tratamiento. Los pacientes graves que fallecen tienen un aclaramiento de lactato a las 6 horas de ser reanimados menor de  $10\%$  ( $<10\%$ ), que el de aquellos que sobreviven que lo tienen más rápido ( $\geq 10\%$ ). Diversos estudios han considerado el aclaramiento de lactato como un predictor independiente de mortalidad hospitalaria. Nguyen y col observaron que pacientes con mayor aclaramiento requerían menor dosis de vasopresores y mejoría de la disfunción orgánica a las 72 horas de la evolución<sup>93</sup>.

Posteriormente, en otro estudio se buscó si existía una concordancia entre lograr valores óptimos de SvcO<sub>2</sub> y el aclaramiento de lactato. Los resultados mostraron una tasa de mortalidad hospitalaria tres veces mayor en los pacientes con aclaramiento  $< 10\%$ , pero no encontró concordancia entre la depuración de lactato y la ScvO<sub>2</sub><sup>94</sup>. Otro reciente estudio, sugieren que el aclaramiento precoz de lactato se asociaba de manera significativa a la disminución en los niveles plasmáticos de biomarcadores, mejoría de la disfunción orgánica a las 72 horas y la resolución del cuadro en pacientes con sepsis severa<sup>95</sup>.



## V.- SEPSIS Y DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA.

Los órganos o sistemas que participan en la disfunción multiorgánica son todos los existentes, pero no todos son monitorizados en el seguimiento de la disfunción. En 1996, desde la Sociedad Europea de Cuidados Intensivos se publicó la escala de seguimiento del fallo orgánico relacionado con la sepsis conocida como SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment)<sup>96</sup> que permite el seguimiento diario de cada órgano evaluado, valora la morbilidad, establece rangos intermedios entre la normalidad y el fracaso orgánico total. Se ha confirmado como predictor de la mortalidad y es extrapolable a pacientes críticos no sépticos. La mortalidad alcanza el 90% cuando la puntuación es superior a 15<sup>97</sup>.

Los órganos evaluados en la disfunción de órganos son 6: respiratorio, hemodinámico, hematológico, hepático, neurológico y renal. La valoración global varía de 0 puntos hasta 24, lo que nos sirve a su vez para definir el distinto grado de afectación de cada órgano (Tabla 11).

Las escalas de gravedad de uso rutinario en Medicina Intensiva sirven para estratificar en función del riesgo vital, controles de calidad asistencial (control de la mortalidad predicha con la real) y como herramientas de gestión. Las más utilizadas son: Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (APACHE) y Simplified Acute Physiology Score (SAPS). El sistema de puntuación APACHE I se diseñó en 1981 por Knaus y col<sup>98</sup>, siendo revisado posteriormente y presentado como APACHE II, e incluye doce variables fisiológicas de las primeras 24 horas de estancia en UCI, más la edad y el estado de salud previo. La puntuación máxima posible del APACHE II es 71, pero pocos pacientes han sobrevivido con puntuaciones superiores a 55 puntos. El sistema SAPS 3 en su tercera versión, consta de dos partes: la primera está representada por la suma aritmética de tres sub-scores que incluyen un total de veinte variables entre ellas unas ya conocidas al ingreso del paciente, otras sobre las circunstancias de ingreso y por último las que

reflejan la presencia y el grado de alteración fisiopatológica en el momento de ingreso en UCI. Al igual que la anterior se determina en las primeras 24 horas de ingreso en la UCI, escogiendo el peor valor de cada variable fisiológica durante ese periodo. La segunda parte viene establecida como el riesgo de muerte en el episodio hospitalario calculado a partir de la puntuación de gravedad<sup>99</sup>. Exceptuando los casos extremos, su correlación con la mortalidad predecible es muy buena.

### **1.- DISFUNCIÓN MIOCÁRDICA EN LA SEPSIS GRAVE. VALORACIÓN DE LA FUNCIÓN CARDIACA.**

La disfunción miocárdica es una disfunción frecuente y relevante durante la sepsis. El 40% de los pacientes con sepsis desarrollan deterioro cardiovascular y, a pesar de los avances en las técnicas de soporte desarrolladas en los últimos años, la mortalidad en estos pacientes puede aumentar hasta el 70-90%.

Inicialmente la disfunción miocárdica en la sepsis fue descrita de acuerdo a las dos formas de presentación del shock séptico: el shock frío y el caliente. El shock frío se asocia a bajos índices cardíacos, mientras que la presentación caliente corresponde a un patrón hiperdinámico caracterizado por hipotensión arterial sistémica grave, una reducción de las resistencias vasculares sistémicas y un índice cardíaco normal o alto.

En las fases iniciales del shock séptico existe hipovolemia debida tanto a cambios en la reactividad vascular, con dilatación arterial y venosa, como por aumentos en la permeabilidad con fuga de plasma al espacio extravascular. La resucitación con volumen restituye el volumen intravascular y eleva el gasto cardíaco en una alta proporción de los pacientes, pero en ocasiones este aumento del gasto cardíaco es insuficiente para compensar la importante caída de las

resistencias vasculares periféricas e incapaz de elevar la presión arterial y mantener la perfusión periférica.

	1	2	3	4
<b>Respiratorio</b>				
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	< 400	< 300	< 200	< 100
<b>Coagulación</b>				
Plaquetas	< 150	< 100	< 50	< 20
<b>Hepática</b>				
Bilirrubina	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	> 12
<b>Cardiovascular</b>				
Hipotensión	PAM<70	Dopamina >5 o dobutamina	Dopamina>5 o Adrenalina < 0.1 o Noradrenalina < 0.1	Dopamina > 15 o Adrenalina > 0.1 o Noradrenalina >0.1
<b>Sistema Nervioso</b>				
GCS	13-14	10-12	6-9	<6
<b>Renal</b>				
Creatinina	1.1 - 1.7	1.71 - 2.99	3.0 - 4.44	> 4.4
Diuresis			<500	< 200

*Tabla 11.- SOFA score*

El concepto de disfunción miocárdica incluye tanto a pacientes con bajo débito y shock frío persistente, como a pacientes que habiendo aumentado su gasto cardiaco y presentándose clínicamente como hiperdinámicos, persisten con diferentes grados de disfunción uni o biventricular<sup>100</sup>.

### 1.1.- MECANISMOS DE DISFUNCION MIOCÁRDICA EN LA SEPSIS:

Se han postulado diversas teorías para explicar la disfunción miocárdica en la sepsis, y entre ellas, las más aceptadas son la disfunción microvascular y la presencia de sustancias depresoras del miocardio. La hipótesis que se mantuvo

vigente durante años acerca de que la disfunción miocárdica se debía a una lesión isquémica, ha sido refutada tras demostrar en estudios la existencia de un flujo coronario normal e incluso elevado en pacientes sépticos comparados con controles normales, además de encontrar una producción normal de fosfatos de alta energía, lo que indicaría un metabolismo miocárdico de oxígeno preservado<sup>101</sup>.

En los años 80, se postuló la existencia de un factor capaz de inducir una alteración de la función cardíaca, al que denominaron “factor depresor del miocardio”. Esta sustancia era capaz de deprimir la función cardíaca tanto in vitro (miofibrillas aisladas) como in vivo (modelo animal). Aunque los primeros trabajos sugerían la existencia de una sustancia depresora única<sup>102</sup>, en la actualidad parece que estén implicados diversos factores circulantes y, entre ellos, el TNF- $\alpha$  y la IL-1 $\beta$ , desempeñan un papel preponderante y se postula un sinergismo entre ellos que es clave de la disfunción contráctil en la sepsis<sup>103</sup>. Otros factores que han sido estudiados como responsables de generar disfunción miocárdica son la IL-6, el factor inhibidor de migración de macrófagos, la lisozima C, la endotelina-1, el estrés oxidativo y el factor de complemento C5a. El TNF- $\alpha$  y la IL-6 producidos por el corazón en situaciones de estrés ejercen un efecto inotrópico negativo tanto in vitro como in vivo y este mecanismo puede estar mediado por la inhibición del aumento de la concentración de calcio intracelular durante la sístole o por la inducción de óxido nítrico. Así mismo, se ha observado que los niveles de IL-6 se incrementan cuando se añaden catecolaminas al tratamiento y que estos niveles de IL-6 se correlacionan de forma directa con las presiones de llenado cardíaco e inversamente con el gasto cardíaco<sup>104</sup>. Niveles en sangre elevados de IL-6, IL-8 e IL-10, con niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y metabolitos del óxido nítrico que no se elevaban se han descrito en pacientes con shock séptico y afectación miocárdica<sup>105</sup>, siendo el TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , las que mejor se adaptan al perfil bioquímico de sustancias depresoras de miocardio<sup>101</sup>.

Esta depresión se produce en dos fases: una inicial, en minutos, con rápida

influencia directa sobre el miocardio, y la otra tardía, horas después de la exposición y que persiste durante días<sup>106, 107</sup>.

En los últimos años se está concediendo más importancia a la teoría de la disfunción microvascular en la sepsis, en la que consecuencia del edema endotelial por la inflamación y de los depósitos de fibrina, se producirá una obstrucción al flujo en la microcirculación, que conllevará a una isquemia relativa de los tejidos o una heterogeneidad del flujo sanguíneo.

Por último, el papel de las catecolaminas y la alteración en sus receptores, la disfunción mitocondrial y la apoptosis son otra de las probables etiologías que pueden ayudar a la disfunción miocárdica en los pacientes sépticos.

Con todo ello, se está buscando un marcador de isquemia miocárdica que pueda detectar de manera precoz la presencia de disfunción miocárdica en los pacientes sépticos. Se ha observado una relación entre los niveles elevados de troponinas cardíacas y una disfunción del ventrículo izquierdo. La elevación del péptido natriurético B también se ha asociado a disfunción miocárdica durante la sepsis<sup>108</sup>. El péptido natriurético-B (BNP) es una hormona secretada por los cardiomiocitos en respuesta a un aumento en la tensión de la pared ventricular y sus niveles plasmáticos se correlacionan con las presiones de llenado del VI. El BNP tiene una vida media de aproximadamente 20 min, mientras que la vida media del NT-proBNP es más estable, es de 120 min. Los niveles de BNP y NT-proBNP en el plasma normal están nivelados y varían ampliamente dependiendo de la edad y del sexo.

Un estudio piloto<sup>109</sup> mostró una correlación inversa entre los niveles de BNP y el índice cardíaco. Otros estudios han mostrado una relación entre niveles plasmáticos de BNP elevados y una disfunción sistólica precoz, siendo estos niveles progresivamente mayores en aquellos pacientes que fallecían<sup>110, 111</sup>.

Estos resultados sugieren que los niveles de BNP podrían ser una herramienta para el diagnóstico precoz de la sepsis, su estratificación, tratamiento y

como marcador pronóstico durante su ingreso en UCI<sup>112-114</sup>.

## **1.2.- MONITORIZACIÓN DE LA FUNCIÓN CARDICA Y ESTABILIZACIÓN HEMODINÁMICA EN LA SEPSIS:**

El paciente en shock séptico requiere una resucitación rápida y agresiva. La prioridad inicial es mantener la presión arterial en niveles óptimos así como asegurar un gasto cardiaco adecuado a las necesidades del paciente.

La expansión de volumen constituye la terapia de primera línea en la sepsis con inestabilidad hemodinámica, aunque sólo un 50% de los pacientes responden al aporte de fluidos incrementando el volumen sistólico. La expansión de la volemia puede, por el contrario, ocasionar efectos deletéreos a nivel pulmonar secundario al aumento del agua extravascular. Por este motivo es preferible el uso de técnicas que permitan valorar la precarga del ventrículo derecho, más que mediciones aisladas de presiones de llenado ventricular. La variación de la presión de pulso está en relación con la respuesta del gasto cardiaco a una sobrecarga de fluidos. Mediciones sensibles a la perfusión de órganos incluyendo la monitorización de la acidosis láctica, la lactacidemia y el aclaramiento de lactato, son útiles para guiar la resucitación con fluidos.

Mediante el análisis del contorno de pulso se obtienen datos de forma continua acerca del gasto cardiaco y otros parámetros hemodinámicos, basándonos en el concepto de que el área bajo la curva de pulso es proporcional al volumen sistólico. El sistema PiCCO mediante termodilución transpulmonar obtiene un gasto cardiaco continuo mediante el análisis de la onda de pulso. La utilización de PiCCO permite monitorizar de forma continua el gasto cardiaco, la variabilidad de la presión de pulso y del volumen sistólico. De forma intermitente permite valorar la gravedad del edema pulmonar (EVLWI: extravascular lung water index), el volumen torácico intravascular (ITBI: intrathoracic blood volumen index) y el

volumen cardiaco telediastólico (GEDVI: global end diastolic volumen index), medidas relacionadas con la precarga ventricular. La tabla 12 muestra los parámetros obtenidos con la monitorización del sistema PiCCO®.

La determinación sucesiva del EVLWI durante la administración de fluidos demostró una disminución en la duración de la ventilación mecánica y de la estancia en UCI en pacientes con sepsis grave, frente a la presión arterial y POAP<sup>115</sup>. Valores bajos de EVLW en pacientes sépticos se ha asociado con mayor supervivencia. Si relacionamos el EVLW con el volumen sanguíneo pulmonar obtenemos el índice de permeabilidad vascular pulmonar (IPVP), que identificaría a los pacientes con edema pulmonar de causa no cardiogénica, si los valores de IPVP > 3.

<b>Análisis del contorno de la onda de pulso (Sistema PiCCO):</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Valores nomales</b>
Índice cardiaco	IC	3.0-5.0 l/min/m <sup>2</sup>
Volumen global telediastólico	GEDV	680-800 ml/min
Agua extravascular pulmonar	EVLWI	3-7 ml/Kg
Indice de permeabilidad vascular pulmonar	PVPI	1-3
Variación del volumen sistólico	SVV	≤ 10%
Variación de la presión de pulso	PPV	≤ 10%
Fracción de eyección global	GEF	25-35%
Contractilidad ventriculo izquierdo indexada	dPmax	-/- mmHg/s

*Tabla 12.- Valores normales de los parámetros de monitorización del sistema PiCCO.*

La variabilidad de la presión de pulso y la variabilidad del volumen sistólico, son parámetros dinámicos derivados del análisis de los cambios de la presión arterial durante un ciclo respiratorio mecánico. Son especialmente útiles para detectar enfermos en los que esperable un aumento del gasto cardiaco en

respuesta a la administración de fluidos, lo que se ha denominado estado “precarga-dependiente” y la magnitud de los cambios respiratorios del volumen sistólico dependerá de la posición de ambos ventrículos en la curva de Frank-Starling.

## **VI- MARCADORES DE GRAVEDAD Y PRONÓSTICO EN LA SEPSIS.**

Los biomarcadores pueden jugar un importante papel en el diagnóstico precoz de la sepsis y en su estratificación. Pueden indicar la presencia o ausencia de sepsis, su severidad y algunos de ellos pueden diferenciar las infecciones bacterianas de las víricas o fúngicas. Otros usos potenciales, incluyen su papel en el pronóstico, en la guía de la terapia antibiótica, evaluando la respuesta al tratamiento y la recuperación de la sepsis, diferenciar los microorganismos gram positivos y gram negativos como causantes de la sepsis, predecir las complicaciones de la sepsis y el desarrollo del síndrome de disfunción multiorgánica.

No existe un gold standard para el diagnóstico de la sepsis, por lo que la efectividad de un marcador debe ser comparada con los métodos actuales para el diagnóstico y la monitorización de la sepsis disponibles en la práctica clínica<sup>116</sup>. La clínica y los tests de laboratorio estándar, no son muy útiles para el diagnóstico de sepsis ya que la mayoría de los pacientes críticos desarrollan algún grado de respuesta inflamatoria, tengan o no un proceso séptico. Como hemos visto anteriormente, la respuesta inflamatoria incluye un número de mecanismos de defensa fisiológicos, cuyo objetivo es limitar y reparar la lesión tisular. La liberación de citoquinas pro-inflamatorias, juega un papel fundamental en la puesta en marcha de estos mecanismos. En los hepatocitos, la respuesta a las citoquinas estimula la síntesis de proteínas inflamatorias de fase aguda, como la PCR y otras sustancias, proteica sérica amiloide A, fibrinógeno y  $\alpha$ -1-antitripsina. En el eje



hipotálamo-hipofisario, esta respuesta causa una modificación del termostato corporal, provocando fiebre y secreción de ACTH, responsable de la producción de glucocorticoides por la glándula adrenal<sup>117</sup>.

Dentro de marcadores buscamos que sea capaz de establecer un diagnóstico, cuantificar la gravedad de la enfermedad, medir la respuesta a un tratamiento o intervención terapéutica. Los más estudiados como marcadores de infección bacteriana y sepsis han sido la proteína C-reactiva (PCR) y la procalcitonina, además de varias citoquinas (IL-6, IL-8), y en la actualidad moléculas endoteliales como el TREM-1, la pro-adrenomedulina y el pro-péptido natriurético cerebral (NT-proBNP).

### **1.- PROTEINA C REACTIVA.**

Es una proteína de fase aguda que juega un papel fundamental en la defensa contra patógenos. Tiene además efectos hemodinámicos durante la sepsis, cuando la reactividad vascular puede ser modulada, aunque el mecanismo exacto no está claramente definido. La concentración plasmática media de la PCR en adultos sanos es de 0,08 mg/dl. Su vida media plasmática es de 19 horas y su biocinética la hace útil como marcador de respuesta terapéutica y diagnóstico de infecciones intercurrentes.

Valores de PCR en sangre > 8-10 mg/dl junto con un SIRS, pueden ayudar a confirmar el diagnóstico de sepsis. Concentraciones < 5 suelen descartar que una infección bacteriana sea causa del SIRS. Un descenso en los niveles de PCR en un plazo de 24 horas  $\geq 25\%$  del valor del día previo o de 72 horas  $\geq 5$  mg/dl menos que el valor inicial, puede predecir una buena respuesta terapéutica de la sepsis.

La determinación seriada de las concentraciones plasmáticas de la PCR es en general un buen indicador de actividad inflamatoria. Las infecciones bacterianas son uno de los estímulos inflamatorios más potentes que determinan grandes

elevaciones de la PCR circulante. Se ha utilizado como marcador de sepsis tanto en adultos como en niños. Varios estudios apoyan el valor de monitorizar las concentraciones de PCR en la identificación precoz de la sepsis. Pova et al<sup>118</sup> demostraron que una concentración  $>8,7$  mg/dl podía predecir la presencia de infección con una sensibilidad de 93,4% y una especificidad del 86,1%, y cuando se combinaba con control de temperatura, la especificidad alcanzaba un 100%. Múltiples estudios han mostrado una asociación entre niveles elevados de PCR y resultados clínicos desfavorables. Otros trabajos han observado la utilidad de medidas seriadas de PCR para la valoración pronóstica de la sepsis<sup>119, 120</sup>.

## **2.- PROCALCITONINA.**

Es producida normalmente por las células C parafoliculares del tiroides. Una proteasa, la katalcalcina, transforma la PCT en calcitonina. En condiciones normales, los niveles de PCT en sangre circulante son muy bajos (inferiores a 0,1 ng/ml), con una vida media sérica de 22-35 horas. Su uso en la práctica clínica fue descrita por Assicot en 1993, que describió que niveles plasmáticos de procalcitonina estaba estrechamente relacionados con el inicio de la infección bacteriana y aparentemente se correlacionaban con la severidad de la infección. Poco después Dandon y col, demostraron que la inyección de endotoxina en voluntarios sanos inducía la liberación de PCT, que alcanzaba niveles máximos a las 8 horas y se mantenían durante 24 horas.

Se ha demostrado su utilidad en el diagnóstico de la infección bacteriana, en diferenciar entre el SIRS de origen no infeccioso y la sepsis y valorar el pronóstico del SIRS y del síndrome de disfunción multiorgánica, sirviendo como indicador de gravedad, identificando subgrupos de pacientes con mayor riesgo de morir.

Datos publicados en los años 90 por Oberhoffer, mostraron un aumento en los niveles de PCT en pacientes con sepsis grave y shock séptico en comparación con aquellos con SIRS y sólo la determinación de PCT, neopterinina y APACHE III podrían diferenciar de manera significativa entre SIRS y sepsis severa. Otros parámetros como PCR, IL-6, IL-8, IL-10, leucocitosis y elastasas mostraron menos exactitud<sup>121, 122</sup>.

Diferentes estudios han evaluado la relación de la PCT con el SOFA<sup>123</sup> considerando que la monitorización de la PCT era una herramienta rápida y real para valorar la DMO y el pronóstico de estos pacientes, estratificando aquellos con riesgo de desarrollar complicaciones clínicamente relevantes<sup>124</sup>.

Una de las más importantes indicaciones en la determinación de la PCT es el seguimiento del curso clínico de la sepsis y la respuesta terapéutica a los antimicrobianos, cirugía y otros tratamientos. Se ha observado como los valores de PCT disminuyen rápidamente en el momento en que la infección está controlada, mientras que permanecen elevados en aquellos casos de infección persistente<sup>125, 126</sup>.

La complejidad de la respuesta inmune del huésped a la infección hace poco probable que un solo biomarcador pueda describir adecuadamente y estratificar a los pacientes con sepsis. Una posibilidad con enorme atractivo consistiría en la combinación de varios marcadores simultáneos con el objetivo de aumentar el poder diagnóstico, como ya describen algunos autores<sup>127, 128</sup>.

Si consideramos los pilares fundamentales de la fisiopatología de la sepsis que hemos ido comentando anteriormente y la interrelación que se establece entre ellos: inflamación-antiinflamación, coagulación, estrés oxidativo y daño endotelial, ¿podríamos obtener una serie de marcadores, que en su conjunto nos podrían describir a los pacientes con sepsis en su fase precoz y estratificar su gravedad, con posibilidades futuras de nuevas opciones terapéuticas a diferentes niveles?

## **2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## **HIPÓTESIS.**

En base al estado actual del tema expuesto anteriormente, todavía no existen marcadores de severidad fiables y tempranos de la sepsis grave. Por ello, la determinación de parámetros relacionados con la inflamación, coagulación, estrés oxidativo y perfusión tisular como pilares fundamentales de la fisiopatología de la sepsis, así como la interrelación de ellos, se considera de utilidad en la práctica clínica para llegar a un diagnóstico precoz, valorar la evolución clínica y plantear terapias futuras.

## **OBJETIVOS.**

Los objetivos de la presente Tesis han sido:

- 1) Valorar las diferencias entre los niveles basales de marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo de los enfermos a su ingreso y los niveles de los pacientes control.
- 2) Determinar la relación entre los niveles basales iniciales de los diferentes marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo con el desenlace final de los pacientes en términos de supervivencia.
- 3) Determinar la evolución de los marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo en el tiempo y su relación con el desenlace final en términos de supervivencia.

4) Determinar la relación de los parámetros de estrés oxidativo, mediadores de la coagulación, reactantes de fase aguda y otros mediadores celulares con las escalas de gravedad, parámetros de uso habitual en la práctica clínica y parámetros que valoran la disfunción de órgano.

5) Determinar la interrelación que pueda existir entre los marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo.

6) Valorar la influencia de las Técnicas de Depuración Renal en los niveles de los diferentes marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**





### **1.- ÁMBITO DEL ESTUDIO:**

Unidad de Cuidados Intensivos del Servicio de Medicina Intensiva del Hospital General de Castellón, hospital docente, de referencia de la Provincia de Castellón y de nivel asistencial 2-3.

El Servicio consta de una Unidad de Cuidados Intensivos polivalente de 15 camas y una Unidad de Cuidados Intermedios de 6 camas, que atienden unos 1000 pacientes al año.

### **2.- SUJETOS OBJETO DE ESTUDIO:**

2 GRUPOS DE PACIENTES:

A.- GRUPO DE ENFERMOS: Pacientes con Sepsis o Shock séptico: patología médica y quirúrgica.

B.- GRUPO CONTROL: Pacientes sanos

#### **2.1- PACIENTES ENFERMOS:**

- Todos los pacientes con Sepsis grave: sepsis asociada a signos de hipoperfusión o de disfunción orgánica como acidosis láctica, oliguria < de 0,5 ml/kg/h durante más de 1 hora, alteraciones mentales agudas o  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < \text{ó} = 280$  mmHg.

- Pacientes en situación de Shock séptico: conforme a las definiciones aportadas en la introducción.

- Todos ellos bajo efectos de la sedación, intubados y conectados a ventilación mecánica.

## **2.2- PACIENTES CONTROL:**

Pacientes con patología hematológica tipo anemias o mielodisplasias que a priori no presentaban alteraciones de los parámetros a estudio.

## **2.3- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

- Menores de 18 años
- Mujeres embarazadas.

## **3.- TAMAÑO DE LA MUESTRA Y TIPO DE MUESTREO:**

Para el tamaño de la muestra se decidió incluir a un mínimo de 20 pacientes sépticos en el grupo de enfermos, entre patología médica y patología quirúrgica (10 en cada uno de los grupos) y 10 pacientes en el grupo control para que el tamaño entre ambos grupos fuera semejante para poder establecer comparaciones.

La inclusión de los pacientes del grupo de enfermos se realizó siempre en las primeras 24 horas de inicio del proceso séptico conforme ingresaban en la Unidad de Cuidados Intensivos. Todos los pacientes para ser incluidos en el estudio debían estar intubados y conectados a ventilación mecánica. El tipo de muestreo fue por conveniencia. En el caso de los controles se buscaron pacientes con características similares en cuanto a edad y sexo al grupo de enfermos para poder comparar ambos grupos.

Dada la frecuentación de este tipo de patología y ante la restricción económica actual, al tratarse de un estudio piloto, se consideró suficiente el tamaño muestral y no se consideró aumentar el número de muestras a analizar ni plantear más tiempos para la recogida de las mismas.

#### **4.- CONSENTIMIENTO INFORMADO:**

Aunque el estudio no incluía ninguna forma de monitorización o de tratamiento distinta de lo que la Lex Artis consagra como habitual en las situaciones infectivas (sepsis, sepsis grave o Shock séptico) descritas, la exigencia de obtener muestras de sangre planteó la necesidad ineludible de obtener la participación voluntaria del paciente (directamente o a través de sus familiares o representantes legales) una vez que se le hubo proporcionado la información necesaria como para que pudieran tomar una decisión libre, consecuente y legalmente respaldada.

El proyecto, en su conjunto, fue presentado al Comité de Ensayos Clínicos (CEIC) del centro, siendo autorizado con fecha 20 de julio de 2007.

En el *Anexo 1* se adjunta el documento expresamente elaborado para la información al paciente y/o sus familiares, en el que se explica el procedimiento a realizar.

El *Anexo 2* corresponde al documento de aceptación del paciente para ser incluido en el estudio, junto con los datos de su identificación personal, y la del médico investigador que realizaba esta tesis. Dado que los enfermos subsidiarios de participar en este estudio, no se hallaban, en la totalidad de los casos, en situación de expresar competentemente su aceptación (intubación orotraqueal + ventilación mecánica) el consentimiento informado fue solicitado y obtenido de sus familiares y/o allegados.

En los enfermos seleccionados como “pacientes control”, se solicitó el consentimiento informado previamente a la extracción de las muestras.

## **5.- SISTEMÁTICA DE TRABAJO:**

### **5.1.- PROTOCOLO AL INGRESO**

Todos los pacientes incluidos en el estudio del grupo enfermos eran sometidos a su ingreso al protocolo estándar de monitorización definido y consensado en nuestro servicio como protocolo de “monitorización al ingreso en UCI” que incluye:

- Monitorización hemodinámica:
  - Monitorización continua del ECG en monitor de cabecera del enfermo, conectado a una central con capacidad de detección de arritmias graves.
  - Monitorización hemodinámica invasiva con el sistema PiCCO®.
- Monitorización respiratoria: frecuencia respiratoria, StO<sub>2</sub>.
  - Monitorización temperatura corporal.

En el momento de su inclusión en el estudio todos ellos se encontraban bajo efectos de la sedación, intubados y conectados a ventilación mecánica.

Se recogieron los datos de filiación del paciente: nombre, edad, sexo, fecha de ingreso en el hospital y en la UCI, fecha de inicio del proceso séptico y hora de inicio del mismo. Se valoró la patología de base, si era médica o quirúrgica, el foco de infección y la gravedad de la enfermedad mediante dos sistemas de puntuación, el APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II) y el SAPS 3 (Simplified Acute Organ Failure Assessment ).

La disfunción orgánica fue evaluado por la escala SOFA (“Sequential Organ Failure Assessment”), que se determina evaluando la función de 6 órganos o sistemas (circulatorio, respiratorio, renal, coagulación, hepático y neurológico) que se puntúan cada uno de ellos de 0 a 4 puntos.

### **5.2.- IMPLANTACIÓN DE CATÉTERES:**

En todos los pacientes del grupo de enfermos se implantaron los siguientes catéteres:

- 1 catéter introducido por punción percutánea, mediante técnica de Seldinger, por *vena Subclavia o Yugular* con extremo proximal en aurícula derecha.

- 1 catéter en *arteria femoral*, introducido mediante la misma técnica que la anterior para la obtención de las muestras de sangre a analizar y conectada a un transductor y a un monitor PiCCO® para la monitorización hemodinámica de forma continua y de donde se extraían posteriormente las muestras.

- Aquellos pacientes que presentaron fracaso renal agudo oligúrico, fueron sometidos a depuración extrarrenal a través de un catéter de hemofiltración introducido por punción percutánea, mediante técnica de Seldinger, por *vena Yugular o vena Femoral*.

### **5.3.- MONITORIZACIÓN HEMODINÁMICA**

En todos los pacientes se realizaron las medidas hemodinámicas generales propias de todo paciente en estado crítico, así como la toma de presiones y muestras de sangre en la arteria femoral.

### **5.3.1.- Parámetros de monitorización mediante sistema arterial:**

- *Frecuencia cardíaca.*
- *Tensión Arterial sistólica, diastólica y media tomadas en el monitor Dräger© tras cateterización de la arteria femoral.*
- *GC y otros parámetros hemodinámicos al conectar el catéter arterial con el sistema de monitorización PiCCO®.*

### **5.3.2.- Parámetros de monitorización mediante sistema venoso:**

El uso del catéter venoso central permite una resucitación agresiva con fluidos y la administración de soporte vasoactivo en pacientes con shock séptico. Nos permite monitorizar:

a) *Presión venosa central (PVC):* valor de presión de sangre de retorno al corazón desde la circulación sistémica. Se considera un parámetro de estimación de la precarga, y un valor de 8-12 mmHg es el objetivo a conseguir según las guías de la Campaña Sobrevivir a la Sepsis<sup>85-86</sup>.

b) *Saturación venosa central (SvcO<sub>2</sub>):* Saturación de oxígeno en el sistema venoso que retorna al corazón. Su valor permite estimar si el balance entre aporte y demanda de oxígeno a los tejidos es adecuado. Se consideran valores objetivo >70%

### **5.3.3.- Parámetros obtenidos mediante el sistema PiCCO® (PiCCO System, PULSION Medical Systems AG, Munich, Alemania):**

El sistema PiCCO® utiliza el análisis del contorno de la onda de pulso para la obtención del GC y otros parámetros hemodinámicos, basándose en el concepto

de que el área bajo la curva de pulso es proporcional al volumen sistólico (VS). Obtenemos:

1.- **Mediciones del flujo sanguíneo:** GC calculado por el análisis de la curva de termodilución transpulmonar (TDTP) usando la ecuación de Stewart-Hamilton. Para determinar el GC se precisa la inyección de un indicador en bolo, a distinta temperatura que la de la sangre, normalmente suero salino isotónico, a través de la luz del catéter venoso central en el que se encuentra el sensor de temperatura externo. Una vez en el torrente sanguíneo, el termistor situado en la punta del catéter arterial detecta las variaciones de la temperatura generando la curva de termodilución.

2.- **Medición de volúmenes:** volúmenes de los compartimentos intravasculares, así como el líquido extravascular pulmonar. Estima la precarga cardíaca a través de 2 parámetros: *a)* la medición del volumen global al final de la diástole (GEDV), definido como la suma del volumen de sangre de las 4 cavidades cardíacas, y *b)* el índice de volumen sanguíneo intratorácico (ITBV) considerado como el volumen de sangre que hay en las 4 cavidades cardíacas y en el lecho vascular pulmonar. Ninguno de estos parámetros se altera con la ventilación mecánica. La medición del agua extravascular pulmonar (EVLW) supone una medida de cuantificación del edema pulmonar y permeabilidad vascular, índice de permeabilidad vascular pulmonar (PVPI)<sup>129</sup>.

3.- **Parámetros de contractilidad cardíaca:** *a)* Fracción de eyección global (GEF), parámetro más frecuente utilizado para valorar la función ventricular y que refleja la fracción eyectada del volumen diastólico final global. Se define como el cociente entre el volumen sistólico (VS) y  $\frac{1}{4}$  del volumen telediastólico ventricular (VTDG) y *b)* Velocidad de aumento de la presión ventricular pico (dp/max), mediante el análisis de la curva de presión arterial.



#### **5.4.- MANEJO TERAPÉUTICO DEL PACIENTE SÉPTICO:**

El manejo del paciente séptico se realizó de acuerdo a las directrices establecidas por la Surviving Sepsis Campaign, con los paquetes de medidas a realizar en las primeras seis horas de inicio del cuadro y en las 24 horas posteriores<sup>85-86</sup>.

El manejo inicial, durante las primeras seis horas del reconocimiento de la sepsis, tiene como objetivo la resucitación inicial y mitigar la amenaza que supone una infección no controlada. La resucitación requiere del aporte de fluidos para conseguir normalizar los parámetros hemodinámicos fijados como objetivo, PAM, SvO<sub>2</sub>, PVC y diuresis, y si no hay respuesta iniciar soporte vasoactivo e inotrópico y, la administración de oxigenoterapia, de forma no invasiva o mediante ventilación mecánica. Durante este tiempo es necesario buscar el foco probable de infección, obtener muestras microbiológicas, iniciar antibioterapia lo más precoz posible y controlar el foco de infección (drenaje o tratamiento quirúrgico).

Tras las primeras seis horas de tratamiento, el objetivo se centrará en el manejo y control de la disfunción de órganos para evitar mayor número de complicaciones<sup>1</sup>.

La disfunción respiratoria se define como  $pO_2/FiO_2 < 300$  mmHg y la ventilación mecánica mediante la aplicación de oxígeno y presión positiva en la vía aérea, siendo la ventilación mecánica invasiva o no invasiva la forma de tratamiento.

En la definición de fracaso renal se consideran tanto la elevación de las cifras plasmáticas de creatinina, como la disminución de diuresis horaria. Aunque la fisiopatología del fracaso renal es compleja, podemos considerar dos mecanismos en el paciente séptico: la hipoperfusión tisular, que conlleva una disminución del flujo renal y del filtrado glomerular y, en segundo lugar por un mecanismo inflamatorio y tóxico por las sustancias liberadas o por los fármacos

administrados. Las técnicas continuas de sustitución renal pretenden sustituir las funciones básicas del riñón, y pueden ser administradas de forma continua o intermitente, aunque se prefieren las primeras porque permiten un mejor manejo el balance fluidos en los pacientes sépticos hemodinámicamente inestables. La técnica más utilizada actualmente y en nuestra unidad es la hemodiafiltración veno venosa continua, que combina difusión y convección.

#### **5.5.- VARIABLES ESTUDIADAS:**

Las variables objeto de estudio y sus características se detallan en la tabla 1 (1a y 1b).

#### **5.6.- OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PROCESAMIENTO:**

##### **5.6.1.- PROTOCOLO DE RECOGIDA DE LAS MUESTRAS Y PREPARACIÓN PARA SU PROCESAMIENTO**

Se prepararan y rotularan previamente a la obtención de las muestras, todos los tubos con el NOMBRE del enfermo, FECHA de la extracción y DETERMINACION a realizar.

Con el catéter ya introducido en la arteria femoral, se procedió al lavado de los mismos con 10 ml. de suero fisiológico seguido de la aspiración de 5 ml de sangre seguido de la extracción de muestras de sangre para las muestras a estudio:

- 5 ml en un tubo de heparina para el análisis del glutatión
- 10 ml en 2 tubos de EDTA para el análisis del MDA, XO y homocisteína.
- 20 ml en cuatro tubos de citrato para el análisis de la IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , PC, PS, factores de coagulación y AT III.

En todos los pacientes se obtuvo además sangre arterial para recuento celular hemático, y determinaciones bioquímica: amilasas, GOT, GPT, Bilirrubina, Fosfatasa Alcalina (FA), GGT, BNP, procalcitonina, así como gasometrías de línea arterial y venosa central.

#### 5.6.1.1.- Tiempos de recogida

En todos los pacientes se recogerán las mismas muestras en varios tiempos desde su ingreso:

- 0-24 horas.
- 24-48 horas.
- 48-72 horas.
- Alta o exitus.

#### 5.6.2.- PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS Y DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

##### 5.6.2.1.- Técnicas de procesamiento de las muestras

- Las muestras para gasometrías se procesadas en el autoanalizador de gases del Servicio de Medicina Intensiva (ABL800 flex blood gas analyzer©), previa calibración del aparato e inmediatamente después de su extracción.

- Las muestras correspondientes serán remitidas al laboratorio de bioquímica para su procesamiento inmediato y posterior análisis.

- Las muestras correspondientes serán remitidas al laboratorio de hematología para su procesamiento inmediato y posterior análisis.

- El resto de muestras fueron trasladadas por el investigador al laboratorio de hematología, donde fueron inmediatamente procesadas por el investigador para ser posteriormente congeladas a -80°C, hasta su procesamiento final.

- En el momento de proceder a las determinaciones las muestras se descongelaron en hielo
- Los resultados fueron recogidos personalmente por el investigador.

#### 5.6.2.2.- Análisis de las muestras:

**A) FUNCIÓN PLAQUETAR:** mediante el analizador de función plaquetaria (PFA-100®, Dade-Behring) que valora automáticamente la adhesión y agregación plaquetaria inducida simultáneamente por una alta velocidad de flujo y por una mezcla de colágeno con ADP o con epinefrina. La muestra de sangre anticoagulada con citrato se dispensa en el reservorio de un cartucho desechable que contiene un capilar dirigido hacia una membrana con un orificio de 150  $\mu\text{m}$  de diámetro. La membrana está recubierta de colágeno y ADP (col-ADP) o con colágeno y epinefrina (col-Epi). Un vacío constante (40 mbar) hace que la sangre circule a alto flujo (4000-6000  $\text{s}^{-1}$ ) por el capilar hasta atravesar el orificio de la membrana del cartucho. Este alto flujo que per se induce activación, la presencia de colágeno, que promueve la adhesión de las plaquetas vía GP Ib/IX y la activación inducida por el ADP/epinefrina de la membrana y por los componentes intraplaquetarios liberados in situ, provocan la formación de un trombo plaquetario que termina por impedir el flujo de sangre a través del orificio. Así, la respuesta hemostática se expresa como el tiempo necesario para obstruir el flujo (TO). El equipo está diseñado para cuantificar sólo TO inferiores a 300 s; superado este tiempo el ensayo se corta automáticamente y el resultado se expresa como TO > 300 s.

## **B) MARCADORES DE INFLAMACIÓN-ANTIINFLAMACIÓN:**

1.- **IL-6:** Se midió la interleuquina-6 por ensayo inmuno-radiométrico (IRMA) de tubo recubierto que se basa en la formación específica de los complejos Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) En cada uno de los tubos recubiertos se colocan 200 µl de solución control, estándar y de muestras de suero se colocan en cada uno de los tubos recubiertos y se añaden a todos ellos 200µl de solución tampón. A continuación se incuban durante 16-20 horas a temperatura ambiente. Posteriormente el contenido completo se aspira, se lava con solución de lavado y se aspira de nuevo. Tras este procedimiento, se añaden a los tubos 200 µL del indicador y se deja durante dos horas. A continuación se lavan de nuevo los tubos y se cuentan en un contador gamma durante 60 segundos. La concentración de IL-6 de las muestras se determinó por interpolación usando una curva estándar preparada al mismo tiempo.

2.- **TNF- $\alpha$ :** Se midió el TNF- $\alpha$  por la misma técnica que la IL-6, aunque a diferencia de ésta, para la determinación del TNF- $\alpha$ , los estándares y las muestras se incuban junto con 50 ul del indicador.

3.- **IL-10:** La determinación de IL-10 se realizó por la técnica ELISA utilizando reactivos comerciales (R&D Systems, MN, EEUU). Las muestras y la curva estándar fueron incubadas en los pocillos de la microplaca recubiertos con un anticuerpo,

Se añadieron 50 µl de diluyente a las muestras y posteriormente 200 µl de estándar a cada pocillo, dejando incubar durante 2 horas. Pasado este tiempo se aspiraba cada pocillo y se lavaba, repitiendo este proceso 3 veces para un total de 4 lavados. Se añadían 200 µl del conjugado a cada pocillo y se incubaba de nuevo durante dos horas y después se procedía al aspirado y lavado (un total de 4

lavados). Se añadían 200 µl de sustrato a cada pocillo y tras 30 minutos de incubación se añadían 50 µl de la solución final. Finalmente se procedía a la lectura de los resultados mediante la determinación de la densidad óptica. La sensibilidad de este ensayo es de 3,9 pg/ml.

4.- **IL-8:** La determinación de IL-8 también se realizó por la técnica ELISA utilizando reactivos comerciales (R&D Systems, MN, EEUU). Las muestras y la curva estándar fueron incubadas en los pocillos de la microplaca recubiertos con un anticuerpo. Se añaden 100 µl de diluyente y luego 50 µl del estándar a cada pocillo dejando incubar durante dos horas. Se aspira y lava cada pocillo, repitiendo al igual que para la IL-10 hasta un total de 4 lavados. Se añaden 100 µl del conjugado en cada pocillo, se deja una hora y se lava de nuevo 4 veces. Tras colocar 200 µl de sustrato se deja durante 30 minutos y pasado este tiempo se añaden 50 µl de solución final. Finalizado el proceso se procede a la lectura. La sensibilidad de este ensayo es de 3,5 pg/ml.

No se ha definido un rango de valores dentro de la normalidad para las citoquinas, por lo que los valores de referencia normales se consideraron a partir de los valores obtenidos en múltiples estudios realizados en pacientes sometidos a estudios del sueño. Así se consideraron valores normales para la IL-10: 1-25 pg/ml, para la IL-6 1-75 pg/ml, IL-8 1-50 pg/ml y el TNF-α 1-50 pg/ml.

### **C) MARCADORES DE COAGULACIÓN:**

Todos ellos fueron determinados en el laboratorio de Hematología en el analizador ACLTop, utilizando los kits correspondientes.

1.- **PROTEÍNA C:** Determinada mediante el test ProClot, una técnica coagulativa que determina la actividad funcional de la Proteína C y que se basa en la prolongación del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activada (TTPA) en presencia de Proteína C activada. La proteína C de la muestra se activa mediante Protac, un activador rápido derivado del veneno de la culebra americana copperhead Agkistrodom. Los niveles de PC expresados en % del valor normal se obtienen por interpolación en una curva de calibración o de referencia establecida con diluciones de plasma humano calibrador y plasma deficitario en PC. Los valores normales se consideran 60-140%.

2.- **PROTEÍNA S libre:** Se determina midiendo el incremento de turbidez debido a la aglutinación de dos reactivos de látex. La C4BP adsorbida sobre el primer reactivo de látex reacciona con alta afinidad con la PS libre del plasma de paciente en presencia de iones calcio. La PS unida al C4BP provoca la aglutinación del 2º reactivo de látex, el cual está recubierto con un anticuerpo monoclonal dirigido contra la PS humana. El grado de aglutinación será directamente proporcional a la concentración de PS libre en plasma. Valores considerados dentro del rango de la normalidad 55-124%.

3.- **FACTORES DE COAGULACIÓN II, VII, VIII Y XII:** Medido por el analizador ACL TOP. Para la determinación de cada factor se mide el TP o el TTPA de una mezcla del plasma deficitario en factor con el plasma del paciente. La actividad del factor de coagulación expresada en % se obtiene mediante interpolación en una curva de calibración o referencia establecida con las diluciones del plasma humano calibrador y el plasma deficitario. Se consideran valores de normalidad: 70-140%.

4.- **ANTITROMBINA III (AT III):** Medido por el analizador ACL TOP mediante una técnica basada en sustrato cromogénico y que consta de dos etapas: 1) Inactivación del FXa en presencia de un exceso de heparina mediante incubación del plasma con el reactivo FXa y, 2) Cuantificación de la actividad de FXa residual con un sustrato cromogénico sintético. Los valores de referencia: 80-120%.

5.- **HOMOCISTEÍNA:** medición por inmunoensayo con látex automatizado mediante el kit HemosIL™. Consta de tres etapas: 1) Reducción de los disulfuros y de las formas unidas a proteínas de la Hcy presente en las muestras a Hcy libre. 2) Conversión enzimática de la Hcy libre a S-adenosil-L-homocisteína (SAH) por la hidrolasa HSA (SAHH). 3) SAH/conjugada tiene múltiples sitios de unión, permitiendo así una reacción de inmunoprecipitación competitiva entre los anti-SAH de látex y el SAH / conjugado libre. El grado de aglutinación será inversamente proporcional a la concentración de Hcy de la muestra y se determina mediante la medición de la disminución de la luz transmitida causada por los agregados. Valores de referencia 0-14µM.

#### **D) MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO:**

1.- **MALONDIALDEHÍDO:** Para llevar a cabo las determinaciones, se necesita derivatizar las muestras con ácido tiobarbitúrico, formándose un aducto, TBARS, que puede ser analizado por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Este método se basa en la hidrólisis de los lipoperóxidos presentes en la muestra y posterior formación de un aducto entre el ácido 2-tiobarbitúrico y el malondialdehído liberado (TBA-MDA<sub>2</sub>). Puesto que el ácido 2-tiobarbitúrico reacciona con distintos grupos carbonilos presentes en la muestra, además de con el malondialdehído, se realiza una separación por cromatografía líquida de alta



eficacia en fase reversa del aducto ácido 2-tiobarbitúrico-malondialdehído del resto de las sustancias reaccionantes presentes en las muestras<sup>130</sup>.

2.- **ACTIVIDAD XANTINA OXIDASA:** La cuantificación de la actividad xantina oxidasa (XO) en plasma fue determinada utilizando el *Xanthine Oxidase Fluorometric Assay Kit* (Cayman Chemical Company, Michigan, USA). Es un método basado en reacciones enzimáticas acopladas en las que la XO, en primer lugar, produce peróxido de hidrógeno durante la oxidación de la hipoxantina. El peróxido de hidrógeno, en presencia de peroxidasa, reacciona con 10-acetil-3,7-dihidroxifenoxazina dando lugar a un compuesto fluorescente llamado resorufina. La resorufina puede ser fácilmente analizada empleando una longitud de onda de excitación de 520-550 nm y una de emisión de 585-595 nm. La determinación se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. La cuantificación de la actividad xantina oxidasa de las muestras se determinó por comparación con una recta estándar de XO. El rango de la recta osciló desde 0,1 hasta 20 mU/ml de XO.

3.- **GLUTATIÓN REDUCIDO (GSH) Y OXIDADO (GSSG):** La determinación se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un tándem de espectrometría de masas (HPLC-MS/MS). El sistema cromatográfico consta de un espectrofotómetro de masas triple-cuadruplo MicromassQuatro™ (Micromass) equipado con una fuente de ionización Z-spray operando en modo ión positivo con un LC-10<sup>a</sup> Shimadzu acoplado al software MassLynx 4.1 para el procesamiento de los datos. Las muestras fueron analizadas por HPLC en fase reversa con una columna C18 Mediterranean Sea (Teknokroma, Barcelona, España) (5.0 x 0,21 cm) con 3 µm de tamaño de partícula<sup>131</sup>. Se determinó el glutatión tanto en su forma oxidada como reducida.

## **6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS:**

El análisis estadístico se realiza con el paquete estadístico SPSS (versión 15.0).

Para comprobar si las diferentes variables analizadas siguen una distribución normal se utiliza la prueba de Kolmogorov-Smirnoff. Cuando la distribución es normal, los datos se expresan como media  $\pm$  desviación estándar; y cuando no lo son como mediana y rango intercuartílico (P25-P75).

Aquellas variables que verifican la hipótesis de normalidad se analizarán mediante pruebas paramétricas, siendo la más utilizada la comprobación de medias mediante pruebas t para datos independientes, y en determinados casos utilizando la prueba t para muestras relacionadas. Para aquellas variables que no seguían una distribución normal, utilizaremos el test no paramétrico: U de Mann Whitney.

Para valorar si existía alguna asociación entre dos variables cuantitativas consideradas de interés se empleó contraste de independencia basados en el coeficiente de Correlación de Pearson. El nivel de significación estadística aceptado fue del 5% ( $p < 0.05$ ), calculando el intervalo de confianza del 95% para todas las pruebas realizadas.

El análisis de grupos de variables dependientes relacionadas que representan diferentes medidas del mismo atributo fue analizado mediante el modelo lineal de medidas repetidas.

Para analizar la dependencia/independencia de variables cualitativas, se elaboraron tablas de contingencia y se calcularon los p-valores correspondientes a los respectivos tests chi-cuadrado.

El estudio evolutivo de los diferentes marcadores se realizó gráficamente, a nivel descriptivo.

	Unidades	Límite	Tipo de variable	Variable satisface hipótesis de normalidad	Acción
<b>Proteína C</b>	PC	60 - 140	Cuantitativa	Si	Anticoagulante natural
<b>Proteína S libre</b>	PS I	55 - 124	Cuantitativa	No	Cofactor PC
<b>Factor II</b>	F.II	70 - 140	Cuantitativa	Si	Conversión fibrinógeno a fibrina
<b>Factor VII</b>	F.VII	70 - 140	Cuantitativa	No	Vía extrínseca coagulación
<b>Factor VIII</b>	F.VIII	70 - 140	Cuantitativa	Si	Vía intrínseca coagulación
<b>Factor XII</b>	F.XII	70 - 140	Cuantitativa	Si	Vía intrínseca coagulación
<b>Antitrombina III</b>	ATIII	80 - 120	Cuantitativa	No	Anticoagulante natural
<b>Homocisteína</b>	HCY	0 - 14	Cuantitativa	No	Alteración endotelio vascular
<b>Analizador de función plaquetar colágeno/ADP</b>	PFA-ADP	60 - 120	Cuantitativa	Si	Función plaquetar
<b>Analizador de función plaquetar colágeno/epinefrina</b>	PFA-EPI	80 - 150	Cuantitativa	No	Función plaquetar
<b>Vitamina B12</b>	Vit B12	116,2 - 513,2	Cuantitativa	Si	Metabolismo HCY
<b>Ácido fólico</b>	Ác. Fólico	4,00 - 16,00	Cuantitativa	Si	Metabolismo HCY

**Tabla 1a.-** Variables estudiadas. Parámetros de coagulación y homocisteína.

	Unidad es	Límite	Tipo de variable	Variable satisfice hipótesis de normalidad	Acción
<b>Interleuquina 6</b>	pg/ml	1-75	Cuantitativa	No	Citoquina proinflamatoria
<b>Interleuquina 8</b>	pg/ml	1-50	Cuantitativa	No	Citoquina proinflamatoria
<b>Interleuquina 10</b>	pg/ml	1-25	Cuantitativa	No	Citoquina antiinflamatoriacoag
<b>Factor de necrosis tumoral <math>\alpha</math></b>	pg/ml	1-50	Cuantitativa	No	Activación cascada coagulacióonn
<b>Malondialdehído</b>	nmol/ml	No definidos	Cuantitativa	No	Peroxidación Lippídica
<b>Xantina oxidasa</b>	mU/ml	No definidos	Cuantitativa	No	Oxidación proteica
<b>Glutación oxidado</b>	mU/ml	No definidos	Cuantitativa	Si	Pro-oxidante
<b>Glutación reducido</b>	$\mu$ mol/ml	No definidos	Cuantitativa	Si	Anti-oxidante
<b>Ratio glutatión reducido/glutatión oxidado</b>	GSH/GSSG	0-100	Cuantitativa	Si	Equilibrio redox

*Tabla 1b.- Variables estudiadas. Parámetros de inflamación y parámetros de estrés oxidativo.*



## **4. RESULTADOS**



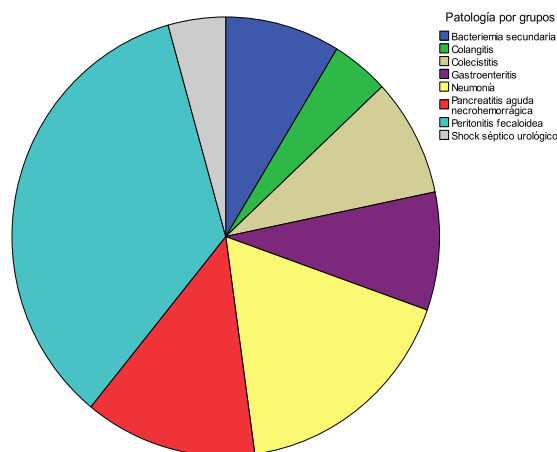
## A) DESCRIPCIÓN DE LOS GRUPOS: GRUPO DE ENFERMOS Y GRUPO CONTROL

### A.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS PACIENTES CON SEPSIS GRAVE Y SHOCK SÉPTICO

El grupo estudio está formado por 23 pacientes con criterios de sepsis grave y shock séptico (SCCC 2001) en el momento de inclusión en el estudio.

La edad de la población a estudio se sitúa entre los 67 y los 80 años, siendo la edad media de 74.5 años. El 52% de los pacientes eran hombres y el 48 % mujeres. La enfermedad de base fue patología quirúrgica para 11 pacientes (47,8%) y médica en los 12 restantes (52,2%). El origen de la sepsis fue mayoritariamente abdominal, con 17 pacientes (73,9%), aunque encontramos también tres de origen pulmonar por neumonía (13%), 1 de origen urológico por perforación vesical (4,3 %), y dos bacteriemias secundarias (8,7%), una a foco abdominal y otra a foco urinario. De los 17 pacientes con patología abdominal, 9 presentaban peritonitis fecaloidea, de los cuales 8 se debían a perforación intestinal-dehiscencia de sutura y una tras isquemia intestinal aguda. Otros dos presentaban cuadro de gastroenteritis grave por *Salmonella*, dos más presentaban colecistitis y una colangitis, 3 pancreatitis agudas graves necrohemorrágicas en las que se obtuvieron cultivos microbiológicamente positivos. Las cuatro patologías pulmonares eran neumonías, dos de ellas por *Streptococco pneumoniae* y en las otras dos no se definió el microorganismo. En el paciente con sepsis urológica, tampoco se llegó a identificar el microorganismo causante. El microorganismo causante de las bacteriemias fue un *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina en el caso de la bacteriemia secundaria a foco urológico, y por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en la bacteriemia secundaria a foco abdominal (Figura 1).





**Figura 1.- Origen de la sepsis**

La puntuación del índice de gravedad del APACHE II al ingreso fue de  $18,33 \pm 6,59$  (media  $\pm$  desv. típica), el SAPS 3 de  $71,17 \pm 14,72$  y el SOFA score de  $10,79 \pm 2,58$ . Todos ellos presentaban un valor de 4 para la situación hemodinámica y de 3 puntos mínimo para la situación respiratoria, ya que formaban parte de los criterios de ingreso. El valor medio para el sistema hepático de 1, supone unas cifras de bilirrubina sérica superiores a 1,2 mg/dl, el valor cercano a 2 del sistema renal cifras de creatinina cercanas a 3 mg/dl (ya que por el tiempo de evolución no se pudo constatar el volumen de diuresis) y el sistema de coagulación con cifras de plaquetas  $< 150 (10^3/\mu l)$ . El sistema neurológico al encontrarse todos los pacientes bajo efectos de la sedación no fue considerado (ver descriptivos tabla 1).

En el momento de la inclusión todos ellos precisaban ventilación mecánica, y se encontraban en situación de shock con necesidad de soporte vasoactivo. Los pacientes estaban sujetos a monitorización hemodinámica mediante el sistema PiCCO. Las características de la monitorización hemodinámica se muestran en la tabla 2.

En la tabla 3 se detallan las características demográficas, función renal,

## Resultados

hepática y reactantes de fase aguda, así como parámetros de hemograma y coagulación. La mortalidad global del grupo fueron 9 pacientes (37,5%), todos ellos en situación de fracaso multiorgánico.

	Media	Mediana	$\sigma$	Mín.	Máx.	P <sub>25</sub>	P <sub>75</sub>
<b>EDAD (años)</b>	72,39	74	7,93	55	81	68	79,75
<b>APACHE II</b>	18,3	17	6,6	7	34	13	23
<b>SAPS 3</b>	71,17	70,5	14,7	47	112	65	77
<b>SOFA</b>	10,61	10	2,48	7	16	9	12,75
<b>Hemodinámico</b>	3,71	4	1	0	4	4	4
<b>Respiratorio</b>	2,96	3	0,36	3	4	3	3
<b>Coagulación</b>	0,65	0	0,9	0	2	0	2
<b>Hepático</b>	1,08	1	1	0	4	1	2
<b>Renal</b>	1,79	2	1	0	4	1	3

*Tabla 1.- Gravedad de los pacientes mediante los tres scores de gravedad. ( $\sigma$  = desviación típica; Mín. = mínimo; Máx. = máximo; P = percentil)*

	Media	Mediana	$\sigma$	Min.	Máx.	P <sub>25</sub>	P <sub>75</sub>
IC (l/min/m <sup>2</sup> )	3,37	3,41	0,89	1,68	5,32	2,62	3,91
IRVS (dyn·cm <sup>-5</sup> ·m <sup>3</sup> )	1675	1639,5	476,34	932	2600	1299	2150
EVLWI (ml/kg)	10,66	9	6,33	5	32	7	11,5
GEF (%)	17,87	17	6,21	10	29	12,25	23
DPmax (mmHg/s)	1092,5	1094	322,1	570	1736	837,5	1352,7
VSI	36	38	11,35	16	55	29	44,5
PAM (mmHg)	75,9	75	16,67	38	111	70	85
PVC (cmH <sub>2</sub> O)	12,5	12	5,38	4	25	10	16
BNP (pg/ml)	688,8	515	660,3	104	2592	176	1088
Procalcitonina (ng/ml)	27,93	22,48	28,33	0,64	97,7	7,87	32,15
SaO <sub>2</sub> (%)	96,25	98	4,9	80,6	100	95,9	98,8
pO <sub>2</sub> (mmHg)	110,5	105,5	35,75	41,4	179	89,4	125,25
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	42,8	40,65	11,2	28,4	72,6	35,6	46,6
pH	7,30	7,32	0,09	7,12	7,45	7,24	7,37
HCO <sub>3</sub> (mmol/l)	21,06	20,45	5,18	13,3	32,5	17,15	24,15
pO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	210,8	216	93,5	41,4	368,0	136,2	292,25
FiO <sub>2</sub> (%)	53	50	19,6	30	100	48,75	66,25
SVO <sub>2</sub> (%)	72,8	77,1	12,08	45,6	86	67,3	80,9
Láctico (mmol/l)	3,65	2,7	2,48	0,49	10,5	2,05	5,6
Aclaramiento lactato (%)	45,87	44,25	38,9	1	95	4,34	95

**Tabla 2.-** Situación hemodinámica tras la monitorización con el sistema PiCCO®, la función respiratoria con gasometría arterial, parámetros de perfusión tisular y marcadores de sepsis como la procalcitonina del grupo de sepsis.

## Resultados

	Media	Mediana	$\sigma$	Mín.	Máx.	P <sub>25</sub>	P <sub>75</sub>
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	145,83	147,50	40,7	84	206	116,25	173,75
<b>Urea (mg/dl)</b>	131,59	114,5	87,7	17	412	69,5	158,75
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	2,7	2,34	1,7	0,6	7,42	1,49	3,62
<b>GOT (UI/l)</b>	79,67	42,50	73,9	23	204	27,50	153,75
<b>GPT (UI/l)</b>	55,17	32,50	46,8	16	135	23,50	100,5
<b>Bilirrubina (mg/dl)</b>	1,72	1,3	1,3	0,49	4,2	1,02	3,6
<b>Amilasa (UI/l)</b>	111,3	93,5	82,28	36	266	52,5	157,25
<b>GGT (UI/l)</b>	73,64	60	42,01	18	152	39	102,5
<b>FA (UI/l)</b>	87,5	89	79,64	7	244	20	145
<b>PCR (mg/l)</b>	214,2	195,1	112,2	50,46	405,78	147,86	341,7
<b>Vit B12 (pg/ml)</b>	575,35	459	435,5	160	1500	217,75	531,75
<b>Ác fólico (ng/ml)</b>	7,93	5,18	5,71	2,38	20	2,74	5,91
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>l)</b>	199	196	1,25	72	559	104	259
<b>Hematocrito (%)</b>	32,3	32,1	4,8	24	41,5	24,9	34,75
<b>IQ (%)</b>	59,57	56	19,07	34	94	50,5	62,5
<b>TTPA (segundos)</b>	39,38	40,6	6,6	29,4	49,6	37,6	43,47
<b>Leucocitos (10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>l)</b>	14,5	11,2	10,5	2,350	37,2	8,1	19,7
<b>Fibrinógeno (mg/dl)</b>	397,5	392	121,3	221	615	269,75	412,25
<b>Dímero D</b>	2844	1335	2512	588	8640	1300	6104

*Tabla 3.- Parámetros de laboratorio referentes a la función renal, hepática, perfusión tisular, reactantes de fase agudo y parámetros de hemograma y coagulación del grupo de sepsis.*

## A.2.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DEL GRUPO CONTROL

Definimos como grupo control a un grupo constituido por 10 pacientes, en seguimiento por consultas externas de Hematología para estudio de anemias o Síndrome mielodisplásico.

La edad media de este grupo fue de 72 (61,5 -77,5). La distribución por sexos fue: 6 hombres (60%) y 4 mujeres (40%). Las características demográficas, función renal, hepática y reactantes de fase aguda se muestran en la tabla 4.

	Media	Mediana	$\sigma$	Mín.	Máx.	P <sub>25</sub>	P <sub>75</sub>
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	112,4	102	31,5	82	184	89,5	130
<b>Urea (mg/dl)</b>	54,43	44	28,3	32	109	34	77
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	1,1	1,02	0,38	0,75	2,0	0,84	1,32
<b>GOT (UI/l)</b>	18	18	4,24	15	21	15	21
<b>GPT (UI/l)</b>	14,8	11,5	6,3	10	30	11	18,5
<b>Bilirrubina (mg/dl)</b>	1,72	1,3	1,3	0,49	4,2	1,02	3,6
<b>Amilasa (UI/l)</b>	68,5	68,5	41,7	39	98	39	98
<b>GGT (UI/l)</b>	23	22	7,5	16	31	19	26,5
<b>FA (UI/l)</b>	70,2	74	21,5	41	116	52,75	78,75
<b>PCR (mg/l)</b>	3,34	2,3	3,7	0,16	12,5	0,88	4,02
<b>Vit B12 (pg/ml)</b>	345	319,5	140,7	161	613	256,7	438,2
<b>Ác fólico (ng/ml)</b>	9,7	7,2	6,7	4,13	25,2	5,4	11,1
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>l)</b>	214	196	6,6	146	368	172	250
<b>Hematocrito (%)</b>	39,2	38,9	3,34	33,5	45,6	36,8	41,1
<b>IQ (%)</b>	107	107	14,8	80	120	96,5	119
<b>TTPA (segundos)</b>	28,3	27,2	3,6	24,3	34,8	25,4	31,3
<b>Leucocitos (10<sup>3</sup> /<math>\mu</math>l)</b>	6,9	7,8	2,8	0,5	100	5,4	8,7
<b>Fibrinógeno (mg/dl)</b>	353,1	364	97,8	216	543	267,5	394,5
<b>Dímero D</b>	260	310	95,4	150	320	230	315

*Tabla 4.- Parámetros de laboratorio referentes a la función renal, hepática, perfusión tisular, reactantes de fase agudo y parámetros de hemograma y coagulación del grupo control.*

## B) COMPARACIÓN ENTRE EL GRUPO DE ENFERMOS EN EL MOMENTO DE INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO Y EL GRUPO CONTROL

En este apartado nos planteamos analizar cuáles de las variables estudiadas, presentan diferencias significativas entre el grupo de pacientes y el grupo control. Previamente a hacer las comparaciones, comprobamos qué variables satisfacían la hipótesis de normalidad y podrían por tanto compararse mediante tests paramétricos y cuales no. Las variables: PAM, PVC, FiO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>, índice cardíaco (IC), índice resistencias vasculares sistémicas (IRVS), fracción de eyección global (GEF), índice de volumen sistólico (VSI), dPmax, urea, PCR, plaquetas, hematocrito, índice de Quick, péptido natriurético B, ácido fólico, vitamina B12, Proteína C, Factor de coagulación II, VIII y XII, PFA-ADP, se analizaron paramétricamente comparando sus medias entre los dos grupos. El resto de variables no satisfacían la hipótesis de normalidad y se compararon mediante la prueba de Mann-Whitney.

Por ello, la tabla 4 muestra el valor de la media +/- desviación típica para el grupo de casos y controles de toda variable continua que podemos comparar utilizando métodos paramétricos; la frecuencia y el porcentaje de las variables que representan conteos (sexo), y la mediana y el rango para aquellas variables no continuas que vamos a comparar mediante la prueba de Mann-Whitney. En la última columna de la tabla, se muestra el p-valor resultante de comparar en cada caso la variable entre casos y controles, con el método adecuado.

Entre los dos grupos a estudios, enfermos y grupo control no encontramos diferencias en cuanto a la edad y el sexo.

Observamos en el grupo de enfermos un deterioro de la función renal y de la función hepática al compararlo con el grupo control, así como una diferencia significativa en las cifras de hematocrito y en las pruebas de coagulación. Tanto los

niveles de lactato, como indicador de perfusión tisular, como los de PCR, como marcador de inflamación y BNP como marcador de depresión miocárdica son superiores en el grupo de pacientes sépticos, con un valor de p significativo (Tabla 5).

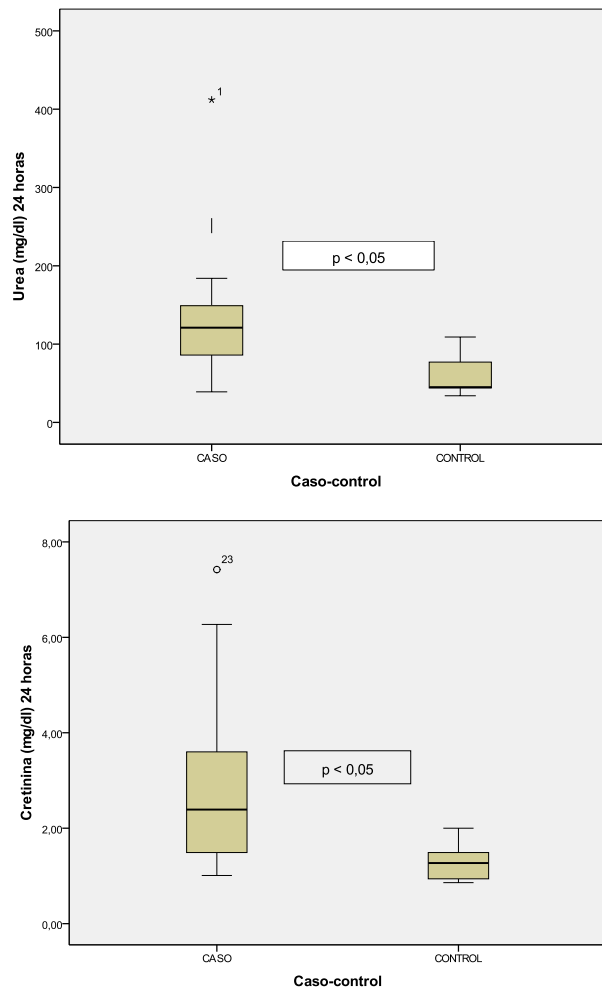
En las siguientes se representan los datos para las diferentes variables mediante diagramas de cajas: función renal, función hepática, PCR, láctico, BNP, vitamina B12, ácido fólico, hematocrito y los parámetros de coagulación. El diagrama de caja muestra los cinco estadísticos: la mediana, los percentiles 25 y 75 y el valor máximo y el valor mínimo, que junto con los valores atípicos muestran información sobre el grado de dispersión de los datos y el grado de asimetría de la distribución.

## Resultados

	CASOS (n=23)	CONTROLES (n=10)	p-valor
<b>Edad (años)</b>	74,5 (68-80)	72 (61,5 -77,5)	0,583
<b>Sexo hombre (n %)</b>	12 (50%)	6 (60%)	0,715
<b>Urea (mg/dl)</b>	131,6 ± 87,7	54,43 ± 28,32	<b>0,039</b>
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	2,34 (1,5-3,6)	1,38 (0,88-1,87)	<b>0,0001</b>
<b>GPT (UI/l)</b>	32,5 (24,5-100)	11 (11-17,75)	<b>0,002</b>
<b>Bilirrubina (mg/dl)</b>	1,3 (1-3,6)	0,4 (0,32-0,47)	<b>0,032</b>
<b>PCR (mg/l)</b>	214 ± 112	3,33 ± 3,72	<b>0,0001</b>
<b>Láctico (mmol/l)</b>	3,65 (2,13-5,6)	0,9 (0,9-0,97)	<b>0,002</b>
<b>BNP (pg/ml)</b>	688,8 ± 660	28,2 ± 22,46	<b>0,0001</b>
<b>Vit B12 (pg/ml)</b>	575,3 ± 435,5	345 ± 140,7	0,224
<b>Ác fólico (ng/ml)</b>	7,93 ± 5,71	9,7 ± 6,7	0,673
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup> /µl)</b>	199 ± 1,28	214,9 ± 66,3	0,519
<b>Hematocrito (%)</b>	32,3 ± 4,8	39,23 ± 3,3	<b>0,0001</b>
<b>IQ (%)</b>	59,6 ± 19,4	107,11 ± 14,87	<b>0,0001</b>
<b>TTPA (segundos)</b>	39,38 (37,4-44,6)	27,2 (25,4-31,3)	<b>0,0001</b>
<b>Leucocitos (10<sup>3</sup> /µl)</b>	14,5 (8,1-19,7)	7,8 (6,4-8,85)	0,165

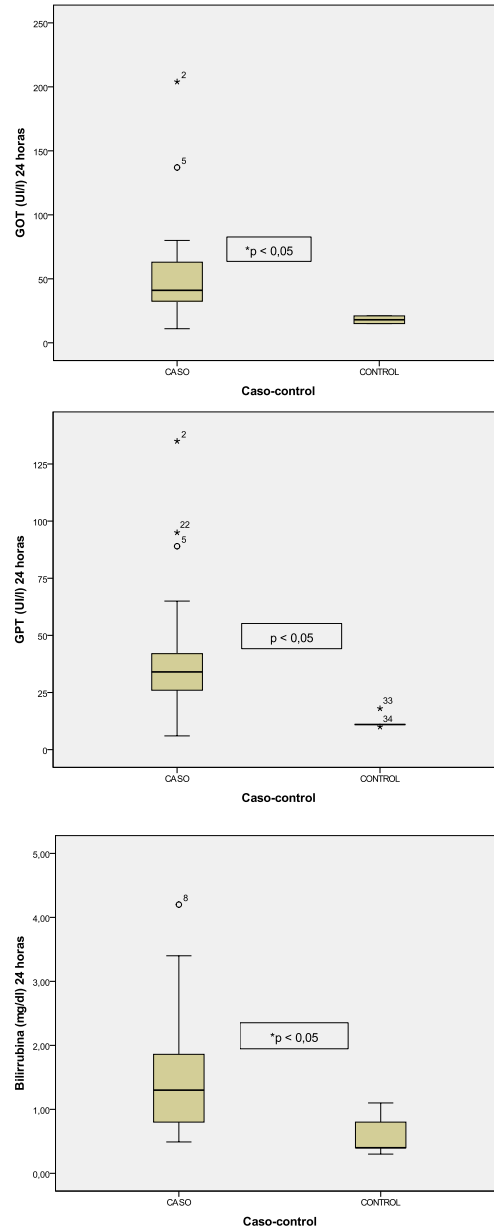
*Tabla 5.- Características basales de ambos grupos en el momento de inclusión en el estudio. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes (variable continua) y mediante test U de Mann Whitney (variable no continua), con nivel de significación  $p < 0,05$ .*



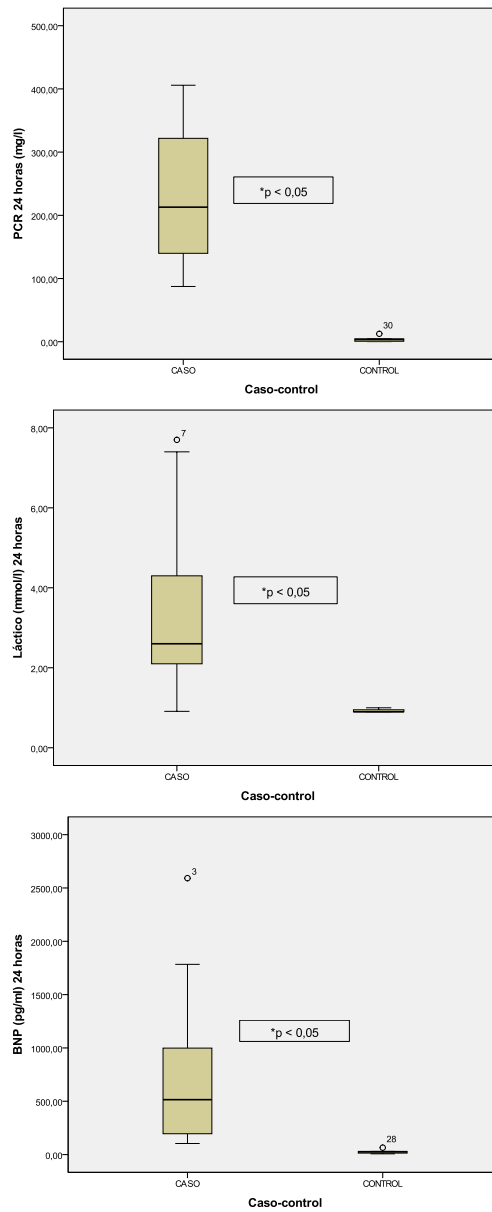


**Figura 2.-** Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de función renal de los casos y de los controles. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Análisis estadístico mediante Prueba t para datos independientes (urea) y mediante test U de Mann Whitney (creatinina). La diferencia estadísticamente significativa se indica como \* $p < 0,05$ .

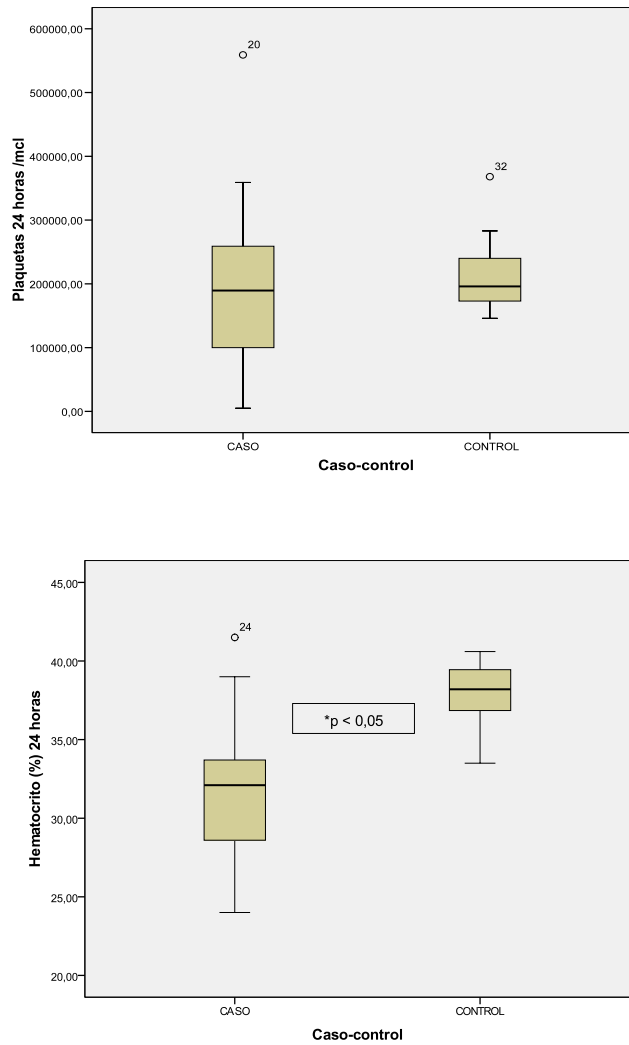
## Resultados



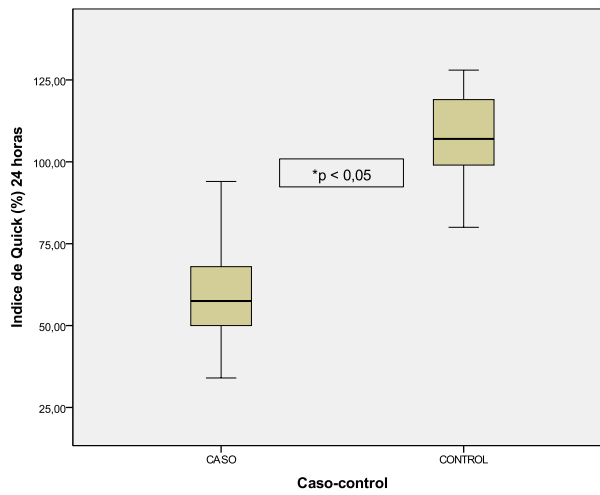
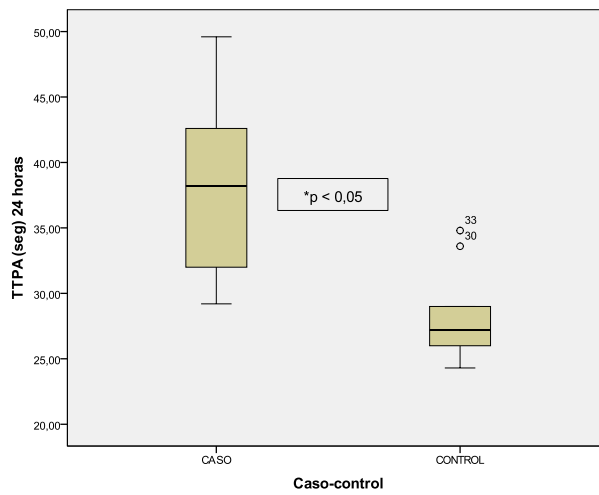
**Figura 3.-** Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de función hepática de los casos y de los controles. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como \* $p < 0,05$ .



**Figura 4.-** Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de PCR, lactato y BNP de los casos y de los controles. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como \* $p < 0,05$ . BNP = Péptido natriurético-B.

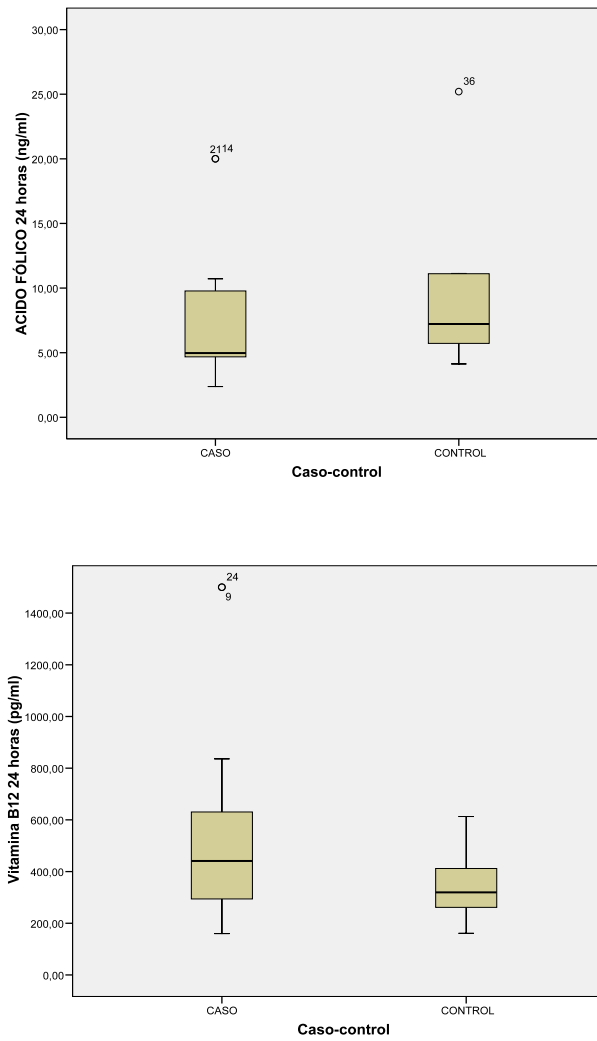


**Figura 5.-** Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de hematocrito y número de plaquetas de los casos y de los controles. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .



**Figura 6.-** Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de parámetros de coagulación de los casos y de los controles. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .

## Resultados



**Figura 7.-** Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de vitamina B<sub>12</sub> y de ácido fólico de los casos y de los controles. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa se indica como \* $p < 0,05$ .

### C) ESTUDIO DE MORTALIDAD EN EL GRUPO DE ENFERMOS

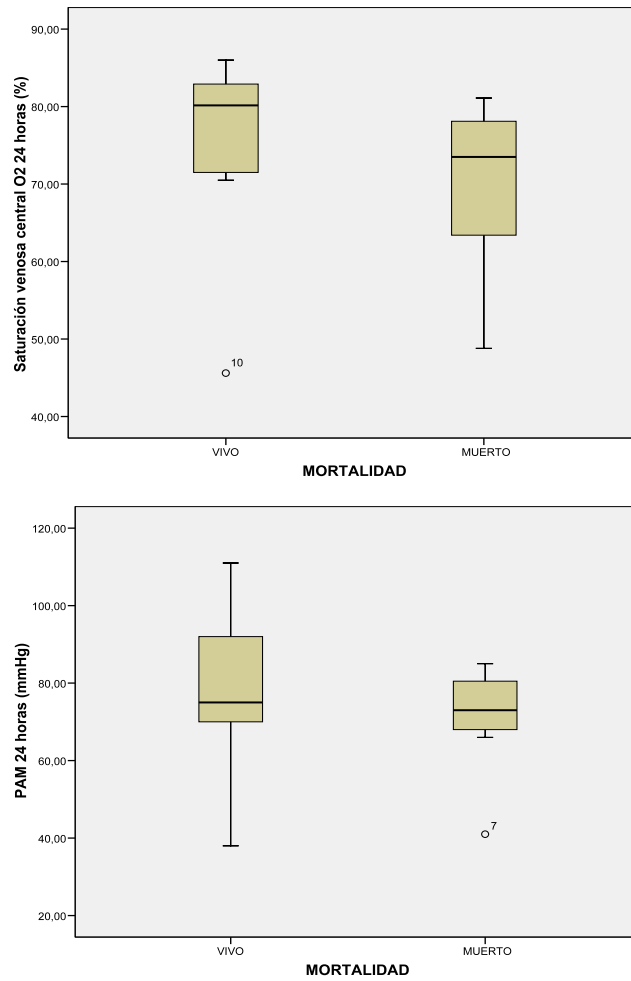
Con el objetivo de identificar las variables que nos permiten identificar a los pacientes que fallecen de aquellos que sobreviven al proceso séptico, valoramos la situación hemodinámica tras la monitorización clínica, la situación respiratoria y los parámetros de perfusión tisular y marcadores de infección utilizados en la práctica clínica habitual. No se observaron diferencias significativas entre los que pacientes que fallecían respecto a los que sobrevivían en relación a los parámetros hemodinámicos, de perfusión tisular y respiratorios. Tampoco diferencias entre los marcadores de inflamación-infección PCR y procalcitonina (tabla 6). En las siguientes figuras (figura 8 a 12) se representa gráficamente los datos para las diferentes variables en el momento de la inclusión en el estudio para los pacientes que fallecen y aquellos que sobreviven.

## Resultados

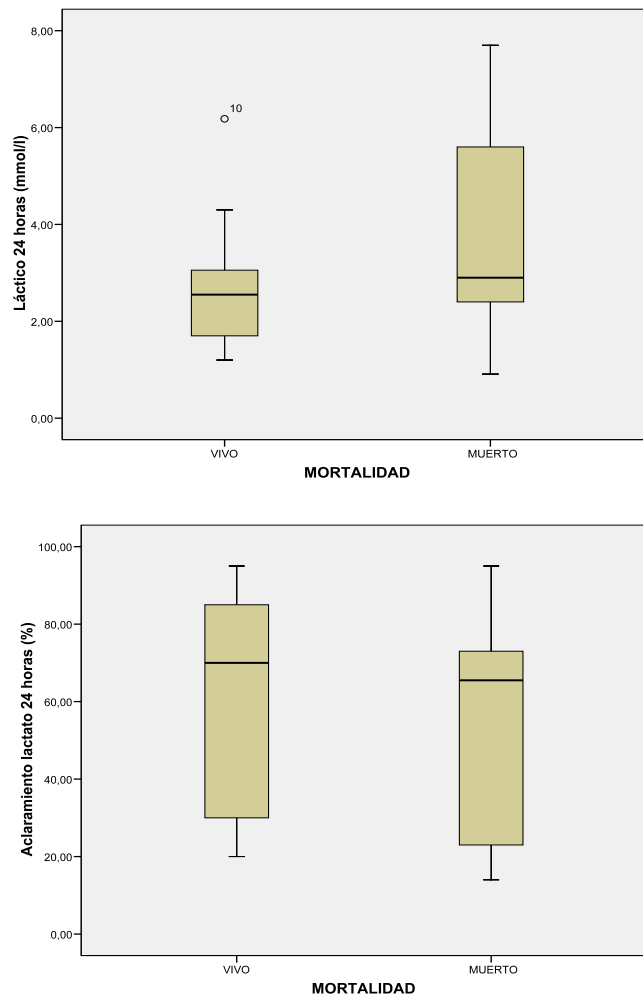
	Viven (n=14)	Fallecen (n=9)	p-valor
<b>PAM (mmHg)</b>	77,66 ± 18,36	70,44 ± 13,04	0,314
<b>PVC (cmH<sub>2</sub>O)</b>	11 ± 5,24	14,11 ± 4,9	0,170
<b>IC (l/min/m<sup>2</sup>)</b>	3,49 ± 0,97	3,14 ± 0,73	0,367
<b>IRVS (dyn·s·cm<sup>-5</sup>·m<sup>2</sup>)</b>	1704,42 ± 509,1	1521,55 ± 513,84	0,412
<b>GEF (%)</b>	17,77 ± 5,9	18 ± 0,79	0,946
<b>VSI</b>	37 ± 11,2	33,9 ± 11,5	0,560
<b>DPMAX (mmHg/s)</b>	1084,7 ± 392	1102,8 ± 233,3	0,922
<b>EVLWI (ml/Kg)</b>	10 (6-12)	14,5 (6,5-29,25)	0,535
<b>FiO<sub>2</sub> (%)</b>	48,4 ± 21,10	56,11 ± 17,1	0,364
<b>pO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	104,9 ± 29,4	119,46 ± 41	0,320
<b>pCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	45,69 ± 12,75	38,4 ± 5	0,068
<b>pH</b>	7,32 (7,23-7,34)	7,36 (7,24-7,42)	0,679
<b>HCO<sub>3</sub> (mmol/l)</b>	21 (17,2-25)	22,35 (18,10-27,42)	0,497
<b>SatO<sub>2</sub> (%)</b>	98 (96,2-98,7)	98,1 (96,17-99,3)	0,471
<b>pO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub></b>	206,18 ± 85,6	231,34 ± 104	0,523
<b>SvO<sub>2</sub> (%)</b>	80,4 (80,1-84,20)	77,3 (68,1-	0,102
<b>Láctico (mmol/l)</b>	2,6 (1,90-6,18)	2,74 (2,22-6,27)	0,581
<b>Aclaramiento láctico (%)</b>	57,61 ± 30,8	54,2 ± 31,3	0,543
<b>PCR (mg/l)</b>	181,58 (119,4-341,7)	212,9 (139,9-305,6)	0,843
<b>Procalcitonina (ng/ml)</b>	18,4 (2,9-56,6)	23,40 (14,1-26,2)	0,713

**Tabla 6.-** Diferencias en los parámetros hemodinámicos, respiratorios y marcadores de inflamación entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos a las 24 horas. Comparación de medias mediante Prueba *t* para datos independientes (variable continua) y mediante test *U* de Mann Whitney (variable no continua). La diferencia estadísticamente significativa se indica como \**p* < 0,05.

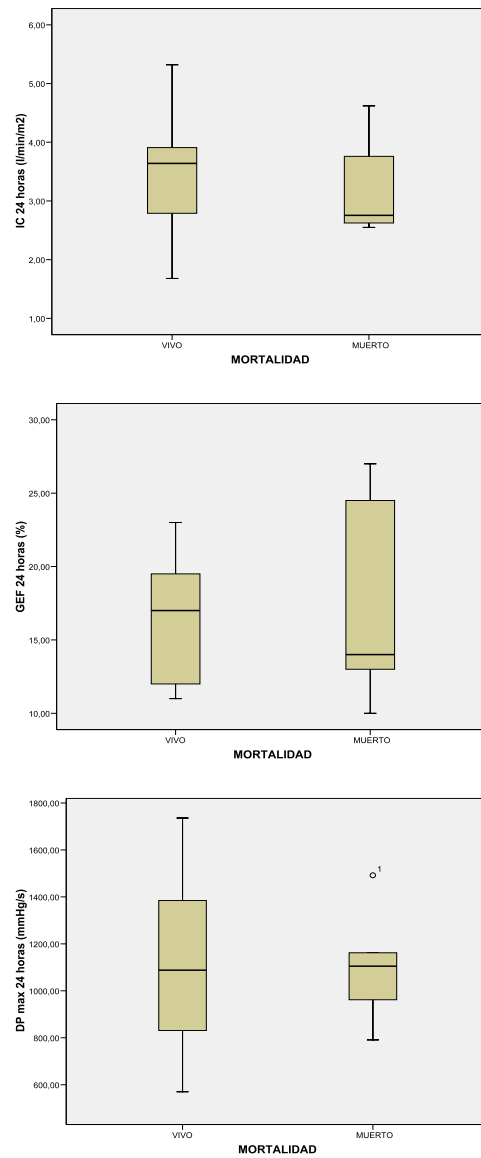




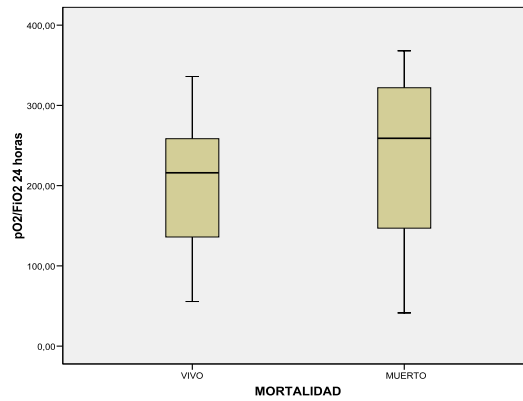
**Figura 8.-** Representación mediante diagramas de cajas de los diferentes parámetros hemodinámicos y de perfusión tisular a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .



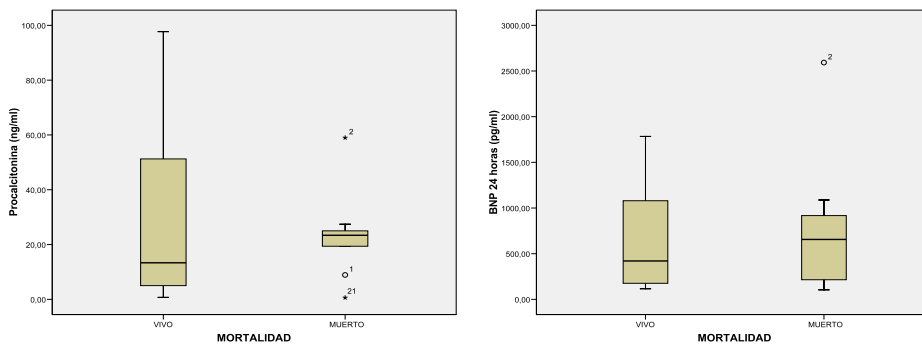
**Figura 9.-** Representación mediante diagramas de cajas de los diferentes parámetros de perfusión tisular a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba *t* para datos independientes y mediante test *U* de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$



**Figura 10.-** Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de función cardiaca al ingreso entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ . IC = Índice cardiaco; GEF = Fracción de eyección global;  $dP/dt_{m\acute{a}x}$  = velocidad de aumento de la presión ventricular pico.



**Figura 11.-** Representación mediante diagramas de cajas de los parámetros de oxigenación a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .

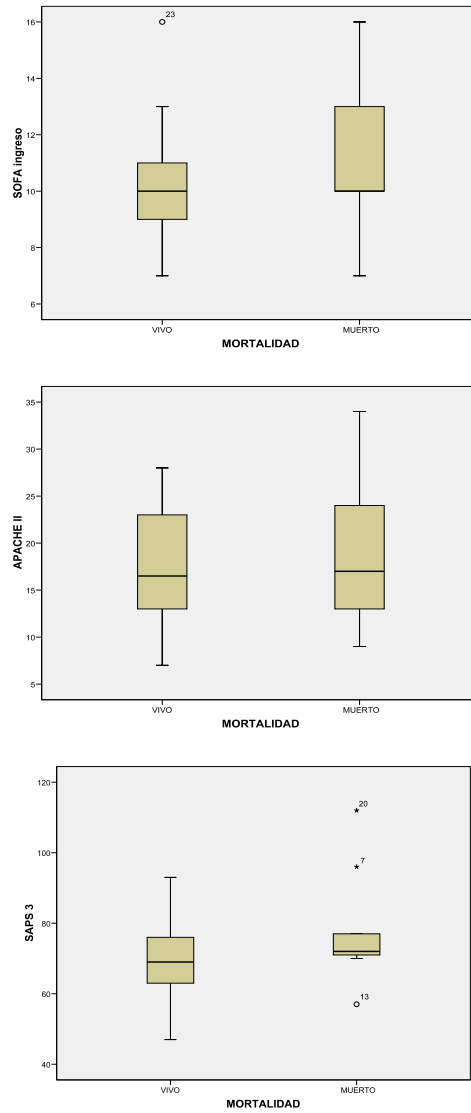


**Figura 12.-** Representación mediante diagramas de cajas de los niveles de procalcitonina y BNP a las 24 horas de ingreso entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .

No se observaron diferencias significativas entre los que pacientes que fallecen frente a los que no fallecen con respecto a los scores de gravedad SAPS 3 y APACHE II y la disfunción de órgano medida por el SOFA score. La Tabla 7 muestra media +/- desviación típica de cada variable en cada grupo, y el p-valor resultante del contraste. En la figura 13 se representan mediante diagramas de cajas los datos para los scores de gravedad para aquellos pacientes que sobreviven y los que fallecen.

	Viven (n=14)	Fallecen (n=9)	p-valor
<b>SOFA</b>	10,73 ± 2,63	11,10 ± 2,51	0,732
<b>APACHE II</b>	18 ± 6,18	19,10 ± 7,65	0,695
<b>SAPS 3</b>	66,07 ± 11,41	76,60 ± 15,91	0,131

**Tabla 7.-** Diferencias en los scores de gravedad utilizados entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa se indica como \* $p < 0,05$



**Figura 13.-** Representación mediante diagramas de cajas de los scores de gravedad para aquellos pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$

## D) MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN LA SEPSIS

### D.1.- COMPARACIÓN CASOS Y CONTROLES

Se comparan los valores de las cuatro citoquinas: IL-10, IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$  y el cociente IL-10 / TNF- $\alpha$ . Se evidencian valores muy elevados en los pacientes enfermos al compararlo con los controles, llegando estas diferencias a ser significativas en el caso de la IL-6 y la IL-8. Para el resto, al igual que el cociente IL-10 / TNF- $\alpha$ , aunque los valores tienden a diferir entre ambos grupos, no se consiguió una significación estadística. La Tabla 8 muestra la mediana, con los percentiles 25 y 75 y los p-valores correspondientes para cada una de las variables analizadas. Los considerados como intervalos de referencia para las interleuquinas (pg/ml) IL-10 (1-25), IL-6 (1-75), IL-8 (1-50), TNF- $\alpha$  (1-50).

	CASOS (n=23)	CONTROLES (n=10)	p-valor
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	1 (1-211,77)	33,65 (1-107,05)	0,800
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	1428,1 (700,5-5000)	50,25 (11,22-582,17)	0,0001
<b>IL-8 (pg/ml)</b>	214,7 (49,5-1090)	1 (1-30,62)	0,0001
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	229,7 (151,9-308,2)	157 (72,65-278,67)	0,210
<b>IL-10 / TNF-<math>\alpha</math></b>	0,01 (0,01-0,6)	0,23 (0,01-0,55)	0,241

*Tabla 8.- Diferencias en los valores de citoquinas entre el grupo de enfermos y el grupo control. Comparación de medias mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como \* $p < 0,05$ .*

### D.2.- PARÁMETROS DE INFLAMACIÓN Y MORTALIDAD EN EL GRUPO DE ENFERMOS

Los valores de citoquinas en el momento de inclusión en el estudio no mostraron diferencias para poder predecir aquellos enfermos con un peor desenlace

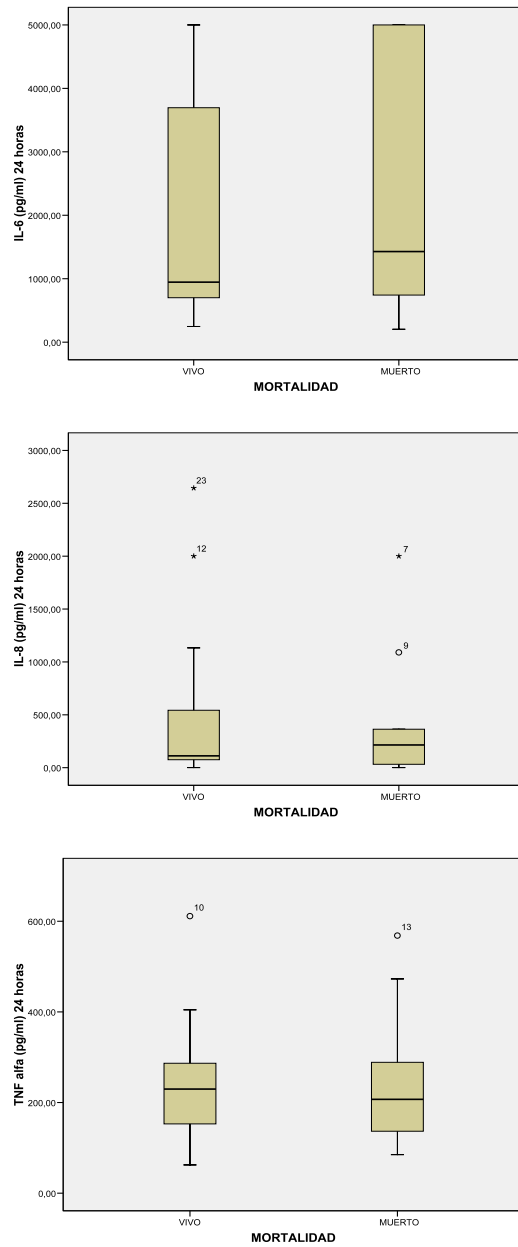
final. La Tabla 9 muestra la mediana, los percentiles 25 y 75 y los p-valores correspondientes a las citoquinas para los grupos de enfermos que fallecen y aquellos que sobreviven.

En las figura 14 y 15 se representa gráficamente los datos para los diferentes parámetros de inflamación en el momento de la inclusión en el estudio para los pacientes que fallecen y aquellos que sobreviven. El diagrama de caja muestra los cinco estadísticos: la mediana, los percentiles 25 y 75 y el valor máximo y el valor mínimo.

	Viven (n= 14)	Fallecen (n=9)	p-valor
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	1 (1-76,62)	143,7 (1-388,1)	0,155
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	1534 (700-4065,4)	1428 (477,2-5000)	0,614
<b>IL-8 (pg/ml)</b>	189,5 (68,7-1350)	214,7 (28,7-726,8)	0,616
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	230,35 (152,6-332,3)	207,1 (134,3-381)	0,973
<b>IL-10 / TNF-<math>\alpha</math></b>	0,01 (0,008-0,05)	0,6 (0,01-1,34)	0,08

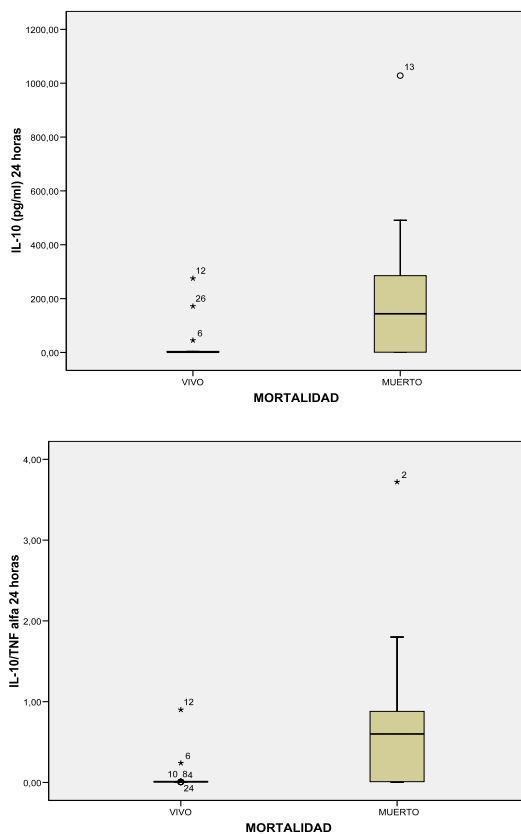
*Tabla 9.- Comparación de los valores de citoquinas mediante test U de Mann Whitney entre los enfermos que fallecen y los que sobreviven. La diferencia estadísticamente significativa se indica como \* $p < 0,05$*





**Figura 14.-** Representación mediante diagramas de cajas de los valores de IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  en aquellos pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$

## Resultados



**Figura 15.-** Representación mediante diagramas de cajas de los valores de IL-10 e IL-10/TNF- $\alpha$  en aquellos pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$

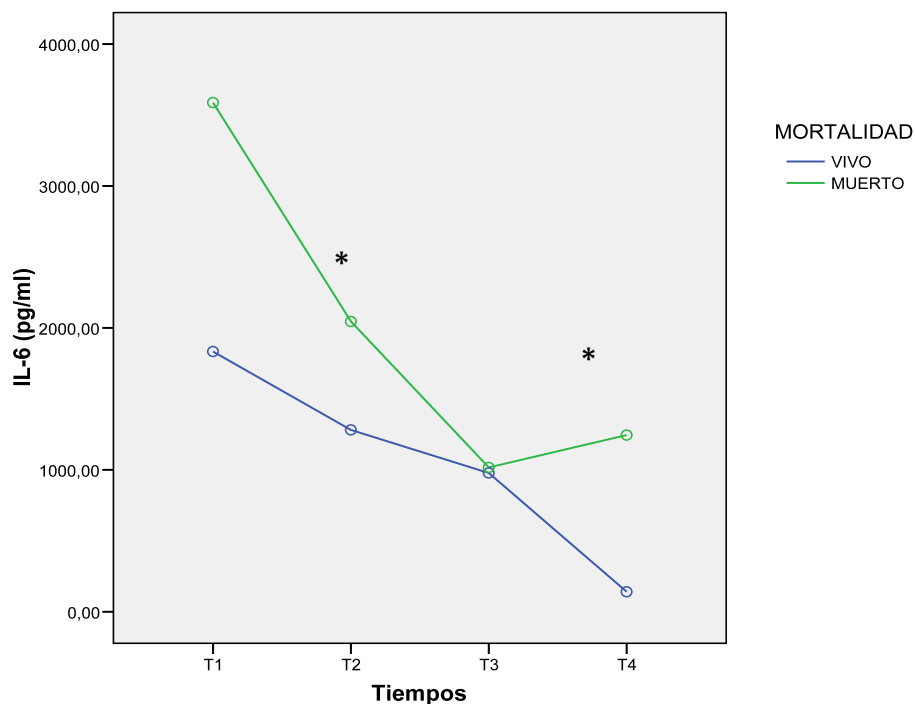
### D.3.- EVOLUCIÓN DE LAS CITOQUINAS Y MORTALIDAD

Se estudiaron las diferentes citoquinas y la relación IL-10/ TNF- $\alpha$  en los diferentes tiempos: 24, 48, 72 horas y al alta o en el momento previo al exitus

Los niveles de IL-6 fueron elevados en todos los pacientes, llegando a valores superiores a 1000 pg/ml en más del 50% de los casos (53,85%) tanto entre los que fallecían como en los que no [1428 (477,15-5000) vs 1534 (700-4065,4)].

La evolución en el tiempo tampoco discrimina de forma clara aquellos pacientes que vivían y los que fallecen, ya que en ambos casos el patrón es similar.

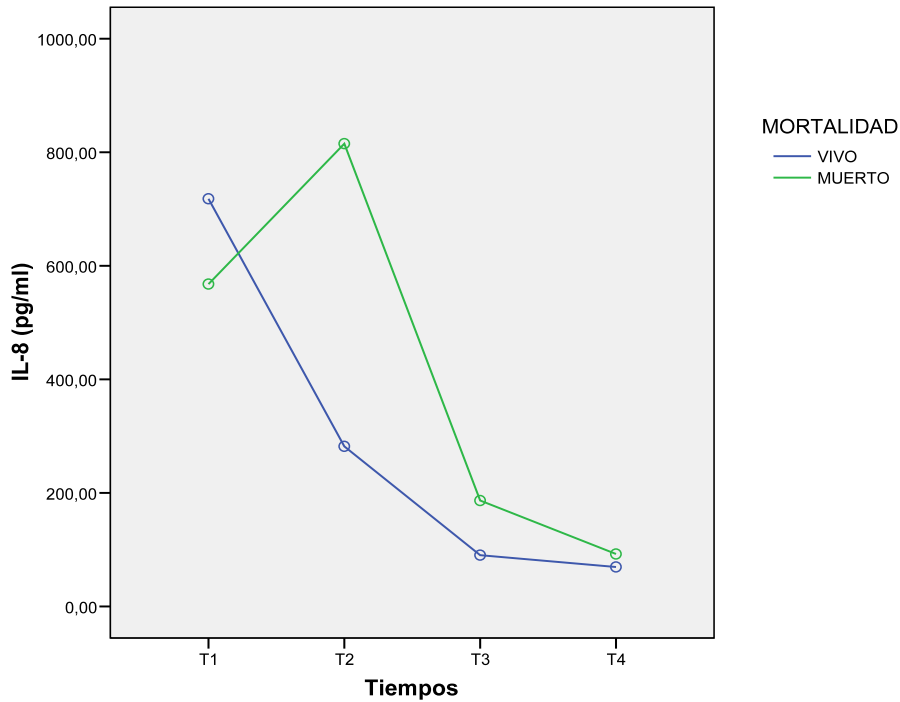
La figura 16 muestra la evolución en el tiempo de las medias de IL-6 en el grupo de enfermos. En azul se muestran las medias de la IL-6 en los diferentes tiempos 24, 48, 72 horas y en el momento de alta en aquellos pacientes que sobreviven. La línea verde muestra las medias de la IL-6 en los diferentes tiempos estudiados en los pacientes que fallecen.



**Figura 16.-** Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de IL-6 en el grupo de enfermos. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .

Los niveles de IL-8 también se encuentran elevados en todos los pacientes, sin encontrar diferencias entre supervivientes y no supervivientes en el momento

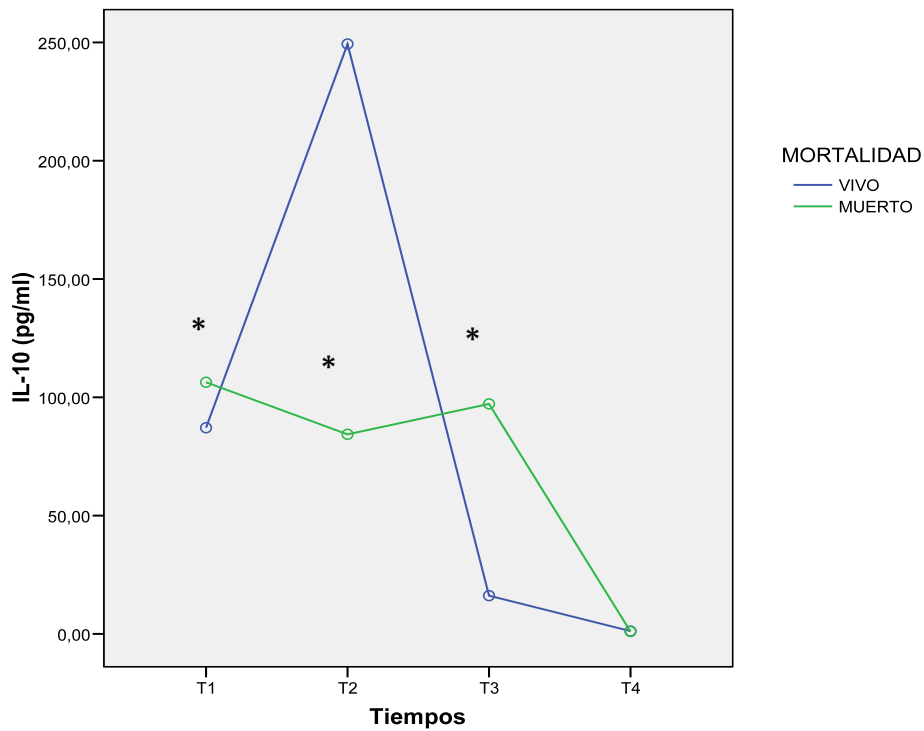
de inclusión. Sí que podemos observar que los pacientes que fallecían presentaban niveles más elevados a las 48 horas, incluso un ascenso. Por el contrario, observamos un descenso de los niveles a las 48 horas en los pacientes que sobrevivían. La Figura 17 muestra la evolución de las medias a lo largo del tiempo de estudio.



**Figura 17.-** Evolución de las medias de los niveles de IL-8 en los diferentes tiempos de estudio. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como \* $p < 0,05$ .

Respecto a la IL-10, encontramos niveles persistentemente elevados a las 48 horas en los pacientes que fallecen, incluso con una nueva elevación a las 72 horas. Los valores más elevados corresponden a dos pacientes que fallecieron en

las primeras 24 horas de inclusión en el estudio. Al igual que el resto de citoquinas, los valores difieren entre ambos grupos, vivos y muertos en el momento de inclusión en los pacientes que sobreviven en comparación con los que fallecen [1 (1-76,62) vs 143,7 (1-388,15) ], y estas diferencias fueron significativas. (Figura 18).

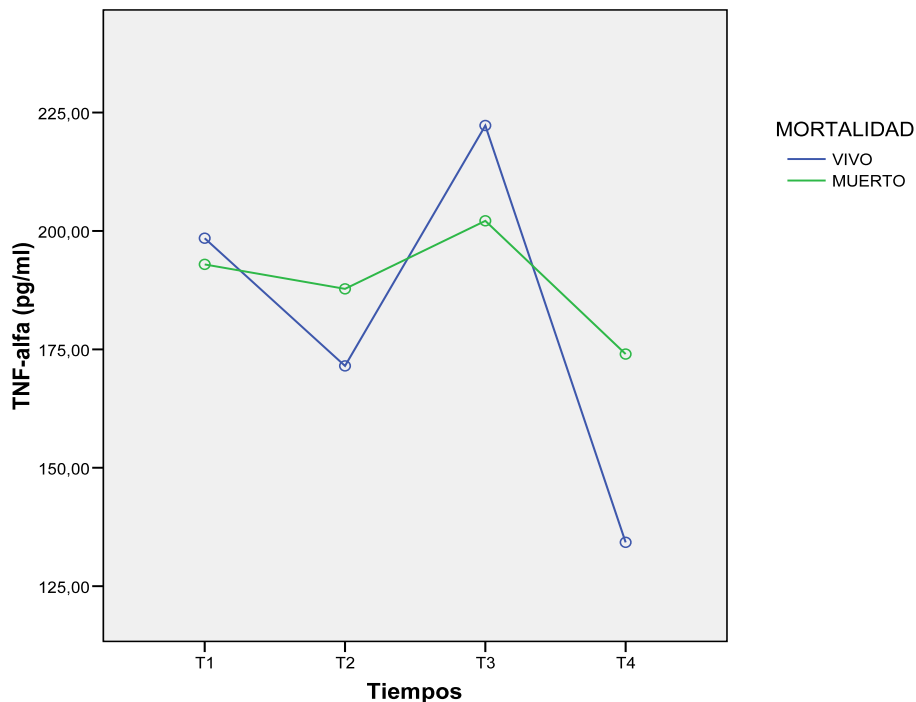


**Figura 18.-** Evolución de las medias de IL-10 en los diferentes tiempos de estudio. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .

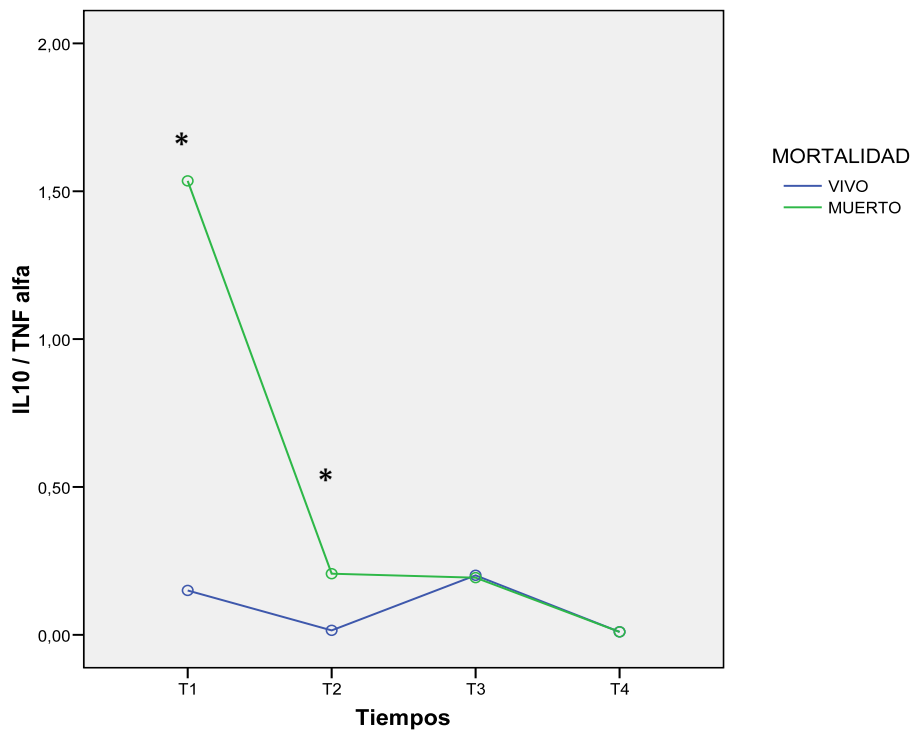
El TNF- $\alpha$  presenta niveles elevados, pero similares en ambos grupos de pacientes, vivos y muertos, [230,35 (152,65-332,3) vs 207,10 (134,35-380,8)],

siguiendo una patrón en picos para los pacientes que sobreviven, mientras que los fallecen siguen una tendencia más rectilínea. (Figura 19).

Observamos respecto al cociente IL-10/TNF- $\alpha$  un descenso de los niveles a las 48 horas de ingreso en ambos grupos, continuando este descenso en aquellos pacientes que fallecen. Por el contrario a las 48 horas se produce un reascenso en el cociente para aquellos pacientes que sobreviven para igualarse posteriormente al grupo que fallecen en el momento final (Figura 20).



**Figura 19.-** Evolución en el tiempo de las medias de los niveles de TNF- $\alpha$ . Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como \* $p < 0,05$ .



**Figura 20.-** Evolución en el tiempo de las medias de la relación  $IL-10/TNF-\alpha$  en el grupo de enfermos. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .

## E) MARCADORES DE COAGULACIÓN EN LA SEPSIS

### E.1.- COMPARACIÓN CASOS-CONTROLES

Al estudiar la coagulación en nuestra muestra encontramos diferencias significativas al comparar los pacientes enfermos con el grupo control, lo que indicaba una activación de la coagulación. Los niveles de factores de coagulación

II, VII y XII eran inferiores, al igual que los niveles de anticoagulantes naturales, proteína C, proteína S y antitrombina III. La agregación plaquetaria medida por el col/ADP era superior en el grupo de enfermos. Todo ello sugiere un aumento de la tendencia trombótica en los pacientes sépticos.

	CASOS	n	CONTROLES	n	p-valor
HEMATOCRITO (%)	32,3 ± 4,8	23	39,2 ± 3,3	10	0,0001
PLAQUETAS (10 <sup>3</sup> /μl)	199 ± 1,28	23	214,9 ± 66,3	10	0,510
DÍMERO D	1300 (907-4649)	14		6	
PROTEÍNA C (%)	31,1 ± 15,3	21	106,77 ± 6,77	10	0,0001
PROTEÍNA S (%)	47,5 (41,6-63,1)	21	97,2 (80,8-128)	9	0,0001
FACTOR II (%)	45,1 ± 9,8	19	105,5 ± 35,57	9	0,001
FACTOR VII (%)	42,65 (28,2-53,3)	20	97,20 ( 80,85 –127,95)	9	0,0001
FACTOR VIII (%)	70,3 ± 32,2	21	84,68 ± 26,76	10	0,188
FACTOR XII (%)	31,84 ± 11,97	21	96 ± 30,77	10	0,0001
AT III (%)	50 (38-62,5)	23	120,8 (92,5-135,57)	9	0,0001
PFA 100 ADP (seg)	151,85 ± 94,35	19	78,66 ± 37,24	9	0,006
PFA 100 EPI (seg)	211 ( 144-300)	21	128 (106,5-199,5)	9	0,86
HCY (μM)	8,37 (5,90-14,51)	21	11 (8,8-16,32)	10	0,190

*Tabla 10.- Comparación de los parámetros de coagulación entre los grupos a estudio, enfermos y grupo control. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como \*p < 0,05. AT III = Antitrombina III; HCY = Homocisteína.*

La Tabla 10 muestra la media +/- desviación típica de aquellas variables continuas que podemos comparar utilizando métodos paramétricos, y la mediana y percentiles 25 y 75 para aquellas variables que no satisfacían la prueba de normalidad. En todos los casos se da el p-valor del contraste adecuado. En el caso del Dímero D no se obtuvieron resultados de laboratorio en los pacientes control, por lo que no se puede hacer una comparación entre los dos grupos.



## E.2.- GRUPO DE ENFERMOS

### E.2.1.- PLAQUETAS:

El 50% de los pacientes presentaba en el momento de inclusión en el estudio cifras superiores a  $150 \times 10^9$ . Cinco pacientes (20,8%) presentaban niveles de plaquetas entre  $150 \times 10^9$  y  $100 \times 10^9$  y otros cinco presentaban niveles inferiores a  $100 \times 10^9$ . Sólo 2 enfermos (8,3%) presentaban cifras  $< 50 \times 10^9$ .

### E.2.2.- DIAGNÓSTICO DE CID

De acuerdo con el algoritmo diagnóstico de la CID de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia, un 34,6% de los pacientes cumplían criterios de CID en el momento de su ingreso. Estudiamos la mortalidad de los pacientes con CID mediante el análisis de tablas personalizadas, obteniendo un p-valor de 0.675, lo que indica que las variables CID y mortalidad son independientes (Tabla 11).

	Viven	Fallecen
<b>CID CONFIRMADA</b>	5 (35,7%)	4 (44,4%)
<b>NO CID</b>	9 (64,2%)	5 (55,5%)

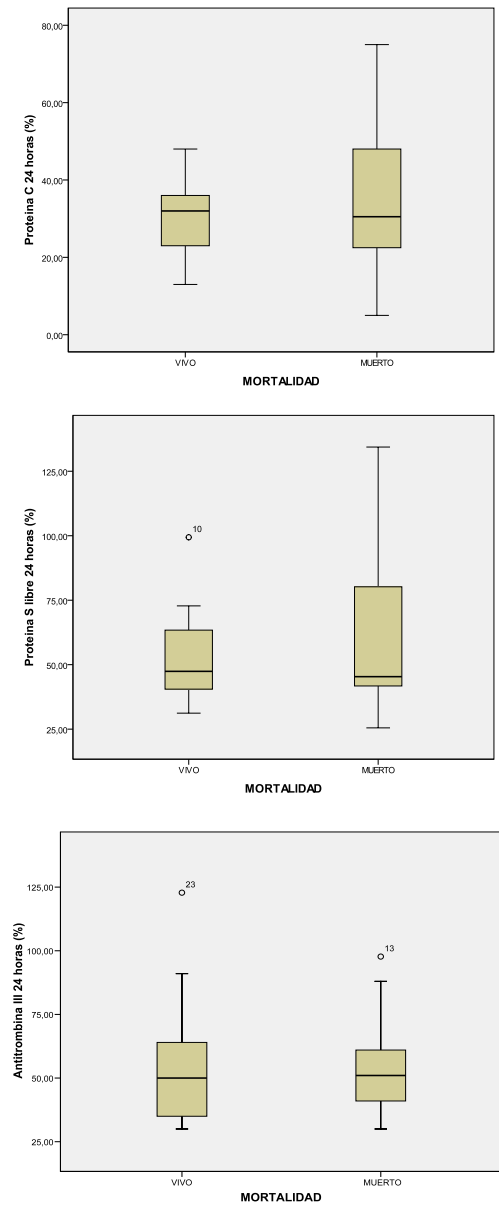
**Tabla 11.-** Relación CID y mortalidad. Test de chi-cuadrado con nivel de significación  $p < 0,05$

### E.2.3.- MORTALIDAD

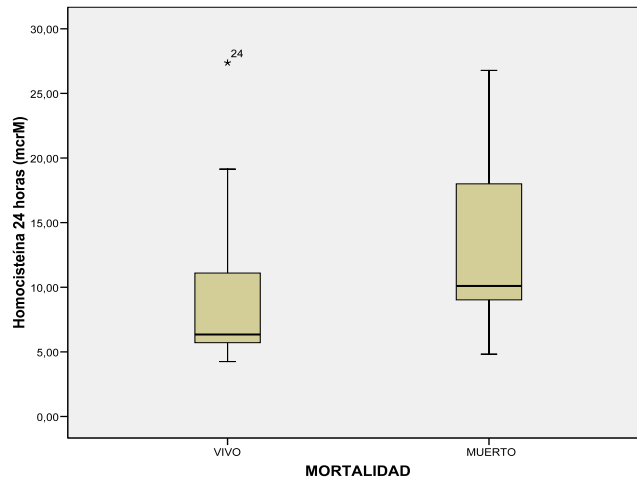
Al comparar entre los paciente que vivían y los que fallecían, no encontramos diferencias en los resultados de los parámetros de coagulación estudiados en el momento de la inclusión al estudio. En la Tabla 12 se detalla la media +/- desviación típica o la mediana y percentiles 25 y 75 según las variables analizadas del proceso de la coagulación. En todos los casos se da el p-valor del contraste adecuado. En las figura 21, 23 y 24 se representa mediante diagramas de cajas los valores de las variables del proceso de coagulación y en la tabla 22 los valores de homocisteína en aquellos pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos.

	Viven	n	Fallecen	n	p-valor
<b>HEMATOCRITO (%)</b>	33 ± 4,2	14	30 ± 5	9	0,096
<b>PLAQUETAS (10<sup>3</sup>/μl)</b>	164,5± 92,2	14	203,5± 143,7	9	0,472
<b>PROTEÍNA C (%)</b>	28,8 ± 10,4	13	35,25 ± 21,6	8	0,048
<b>PROTEÍNA S (%)</b>	53 (36,5-66)	13	47,6 (41,5-105)	8	0,91
<b>FACTOR II (%)</b>	47,1 ± 9,76	12	41,5 ± 9,35	7	0,09
<b>FACTOR VII (%)</b>	42,6 (25,1-53,3)	12	44,6 (33,2-81)	8	0,817
<b>FACTOR VIII (%)</b>	72,3 ± 27,7	13	66,8 ± 40,8	8	0,451
<b>FACTOR XII (%)</b>	33,8 ± 11,8	13	28,4 ± 12,35	8	0,448
<b>AT III (%)</b>	50 (37,5-62)	14	51 (41-61)	9	0,975
<b>PFA 100 ADP (seg)</b>	160,5 ± 93,3	11	138,8± 100,7	8	0,647
<b>PFA 100 EPI (seg)</b>	211,5 (149,5-300)	12	163 (103-247)	9	0,828
<b>HOMOCISTEÍNA (μM)</b>	6,34 (5,6-15,8)	14	10 (8,3-24,7)	7	0,179
<b>IQ (%)</b>	57,35 ± 19	14	58,8 ± 21,62	9	0,734

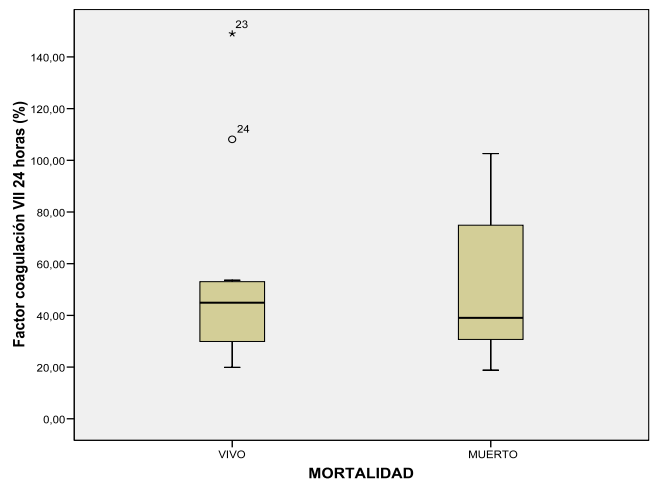
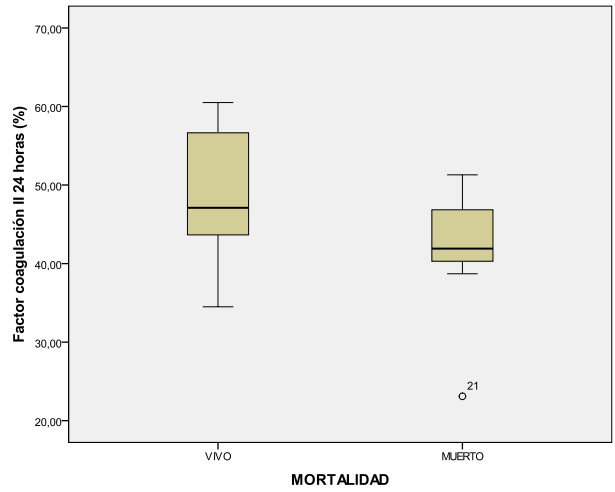
*Tabla 12.- Comparación de los parámetros de coagulación en el momento de inclusión al estudio entre los pacientes que vivían y aquellos que fallecían. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney, con nivel de significación p < 0,05.*



**Figura 21.-** Representación mediante diagramas de cajas de los valores de los anticoagulantes naturales comparando fallecidos y supervivientes del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba *t* para datos independientes y mediante test *U* de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$

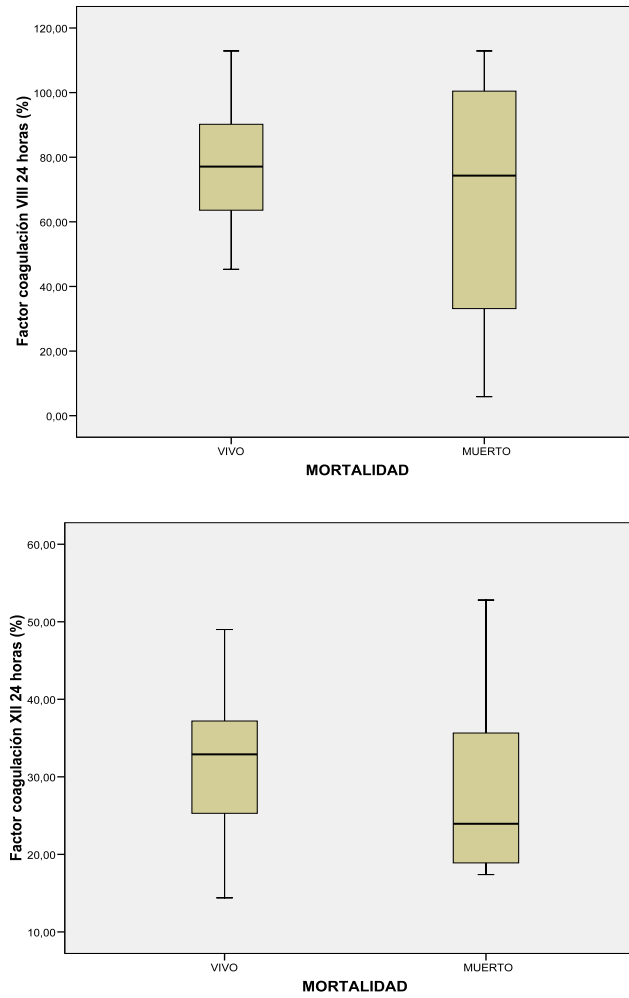


**Figura 22.-** Representación mediante diagramas de cajas de los valores de homocisteína comparando fallecidos y supervivientes del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .



**Figura 23.-** Representación mediante diagramas de cajas de los valores de los factores de coagulación II y VII comparando aquellos pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .

## Resultados



**Figura 24.-** Representación mediante diagramas de cajas de los valores de los factores de coagulación comparando aquellos pacientes que fallecen y los que sobreviven del grupo de enfermos. Los círculos en los extremos superiores representan los valores atípicos. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney. La diferencia estadísticamente significativa se indica como  $*p < 0,05$ .

### E.3.- EVOLUCIÓN DE LOS DISTINTOS PARÁMETROS Y SU RELACIÓN CON LA MORTALIDAD

Se estudiaron los diferentes parámetros de la coagulación en los diferentes tiempos: 24, 48, 72 horas y al alta o en el momento previo al *exitus*.

Las Figuras siguientes (figura 25 a figura 31), dibujan la evolución de las medias de los diferentes parámetros de coagulación en los pacientes que viven y en aquellos que fallecen, con la comparación de las medias de ambos grupos.

En el caso de la proteína C podemos ver como la mayor parte de los pacientes (96,15%) presentan en el momento de la inclusión en el estudio valores por debajo del límite considerado normal para nuestro laboratorio (60-140%). Los pacientes que sobreviven muestran valores progresivamente ascendentes, llegando a valores normales en el momento final del estudio. Por el contrario, en aquellos que fallecen los niveles descienden a las 48 y a las 72 horas, y en el caso de aumentar, no llegan a alcanzar nunca valores cercanos a la normalidad (figura 25).

Los niveles de Proteína S siguen un patrón diferente a la proteína C. La mayor parte de los pacientes que fallecen presentan niveles iniciales por debajo del rango de la normalidad, y pasado el tiempo estos niveles o descienden o ascienden, pero sin superar el límite bajo de la normalidad. Dos de los pacientes que fallecen presentan niveles inicialmente superiores al resto, para posteriormente descender. Entre los pacientes que sobreviven observamos un lento ascenso de los valores inicialmente disminuidos, pero estos valores difieren poco de los que encontramos en el grupo que no sobreviven (Figura 26).

Con la AT III, observamos un patrón más similar a la Proteína C. Más de dos tercios de los pacientes a estudio (84,6%) muestran unos niveles por debajo del límite considerado normal (80-120%). Los pacientes que fallecen, mantienen estos niveles disminuidos, y en caso de aumento, no alcanzan nunca valores

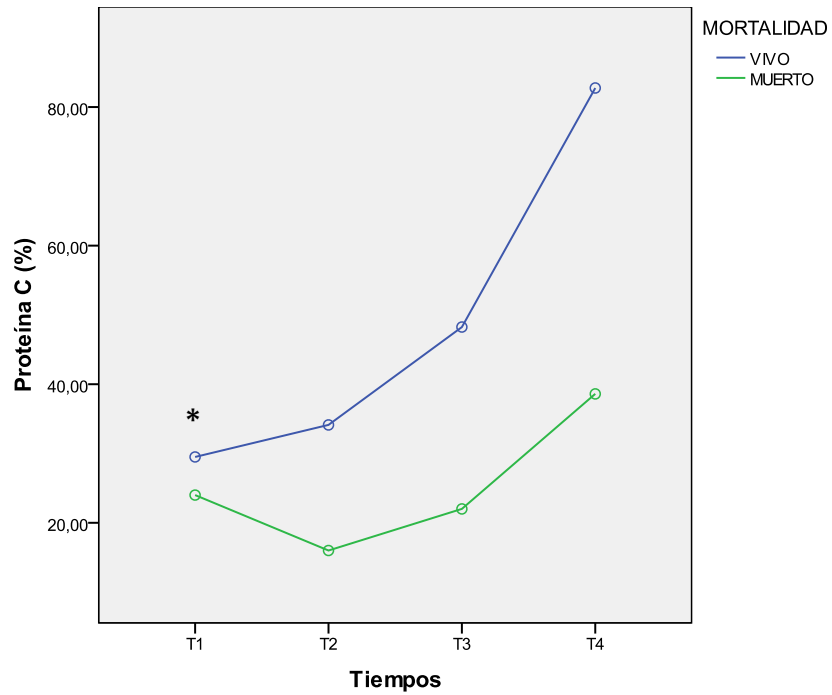
considerados normales. Los supervivientes, alcanzan valores progresivamente superiores llegando a valores normales en la última determinación, e incluso ya evidentes a las 72 horas. (Figura 27).

En relación a los factores de coagulación, observamos niveles más bajos de factor II en el momento inicial en los pacientes que no sobreviven, y estos niveles permanecen más bajos a las 48 horas en comparación con los que sobreviven. En algunos de los pacientes que sobreviven a las 72 horas se alcanzan valores superiores al rango inferior de la normalidad (70%), pero nunca superiores a 120%. (Figura 28).

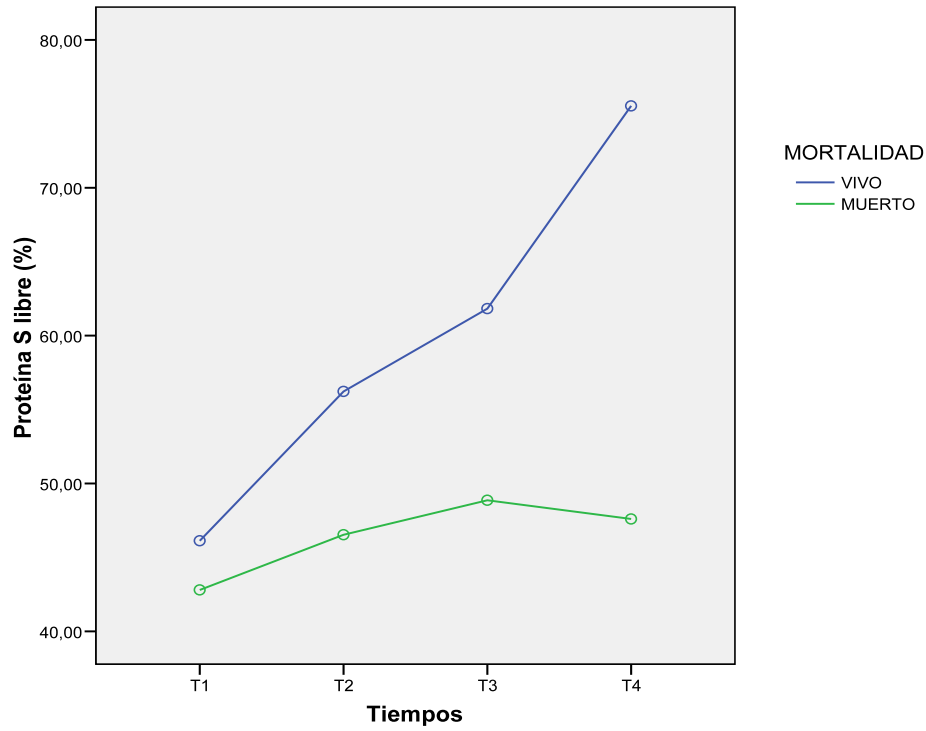
Se observa un claro descenso de los niveles de factor VII en los pacientes que fallecen, siendo más evidente a las 48 horas. Aquellos que presentan un ascenso posterior, nunca llegan a alcanzar los límites inferiores considerados normales (Figura 29).

Los niveles de factor VIII permiten establecer un patrón claro para diferenciar los que viven de los que fallecen, en el momento inicial del estudio (Figura 30). Al contrario, los niveles de factor XII, los cuales desde el momento de inclusión en el estudio son muy similares entre ambos grupos y la evolución no muestra diferencias entre ambos (Figura 31).

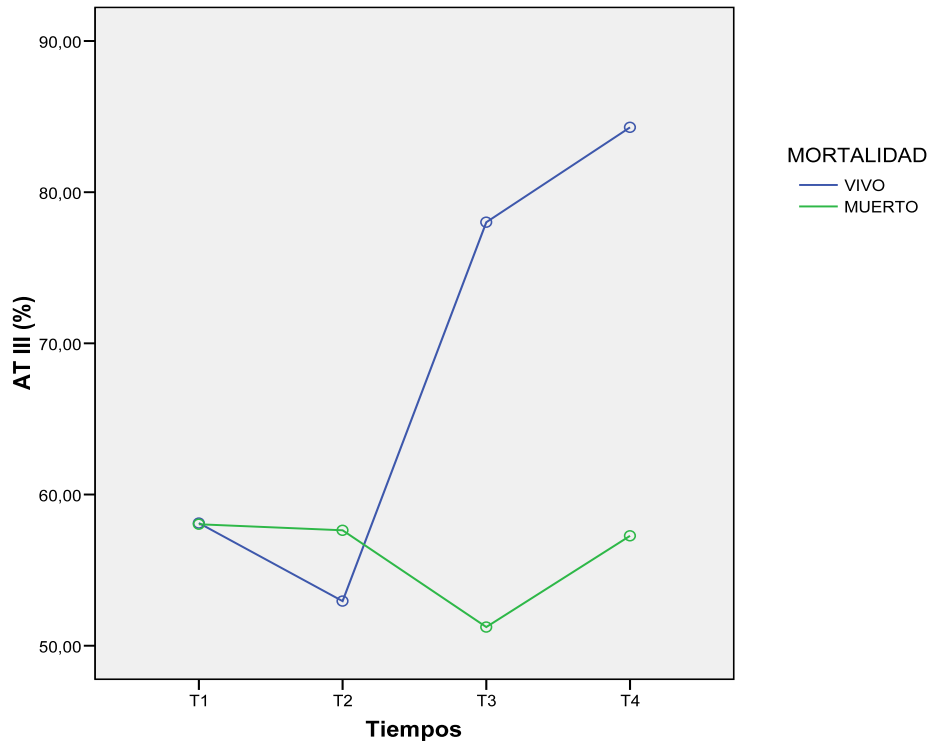




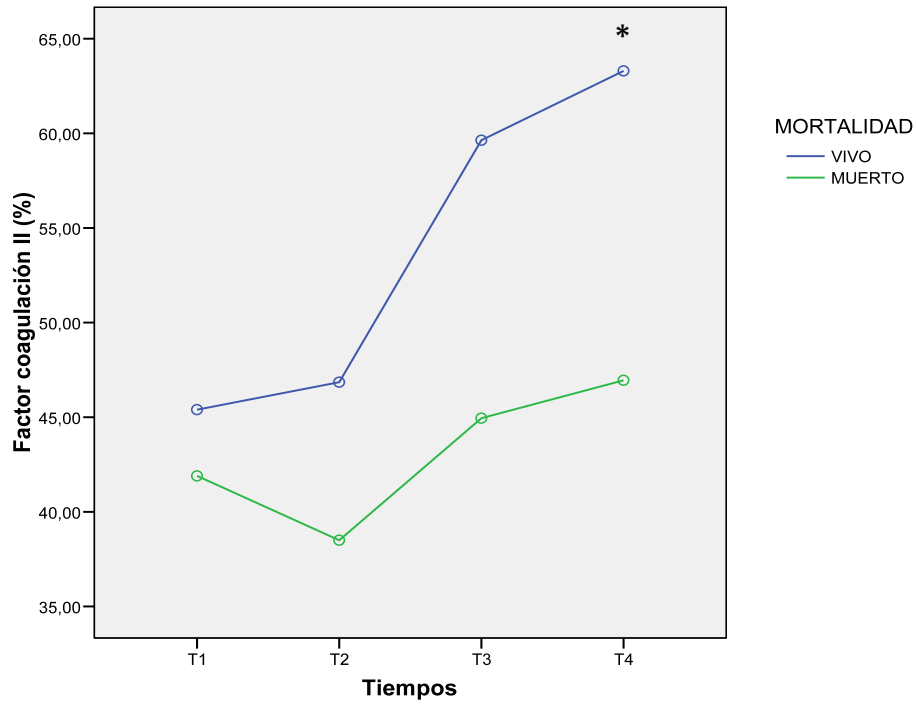
**Figura 25.-** Evolución de las medias de los niveles de Proteína C en los diferentes tiempos de estudio en el grupo de enfermos. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indica como  $*p < 0,05$ .



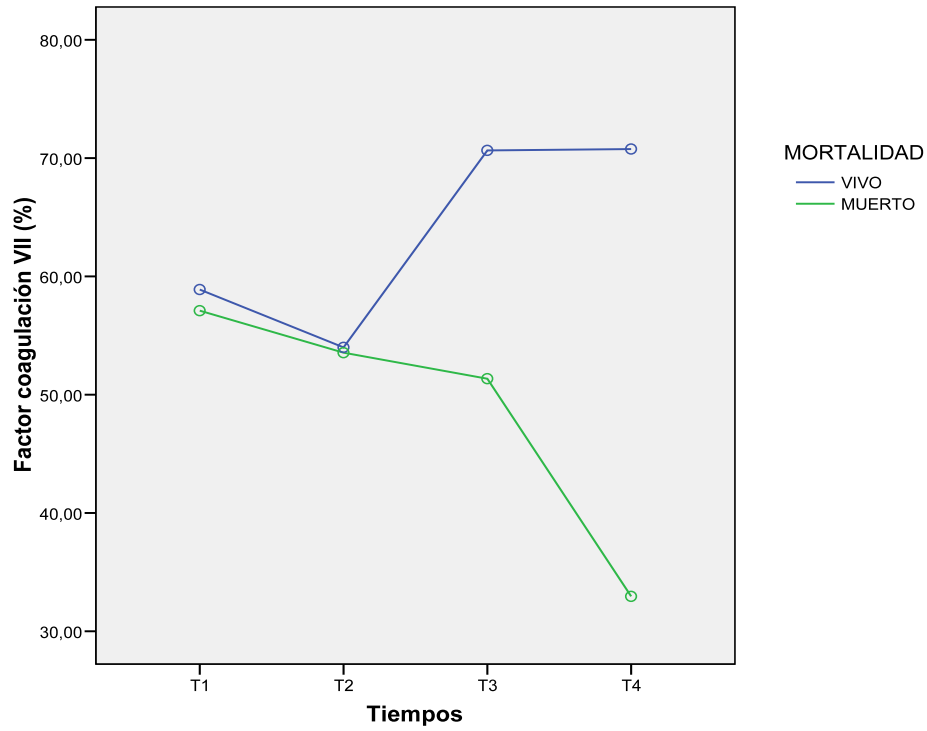
**Figura 26.-** Evolución de las medias a lo largo del tiempo de evolución de los niveles de Proteína S en el grupo de enfermos. . Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .



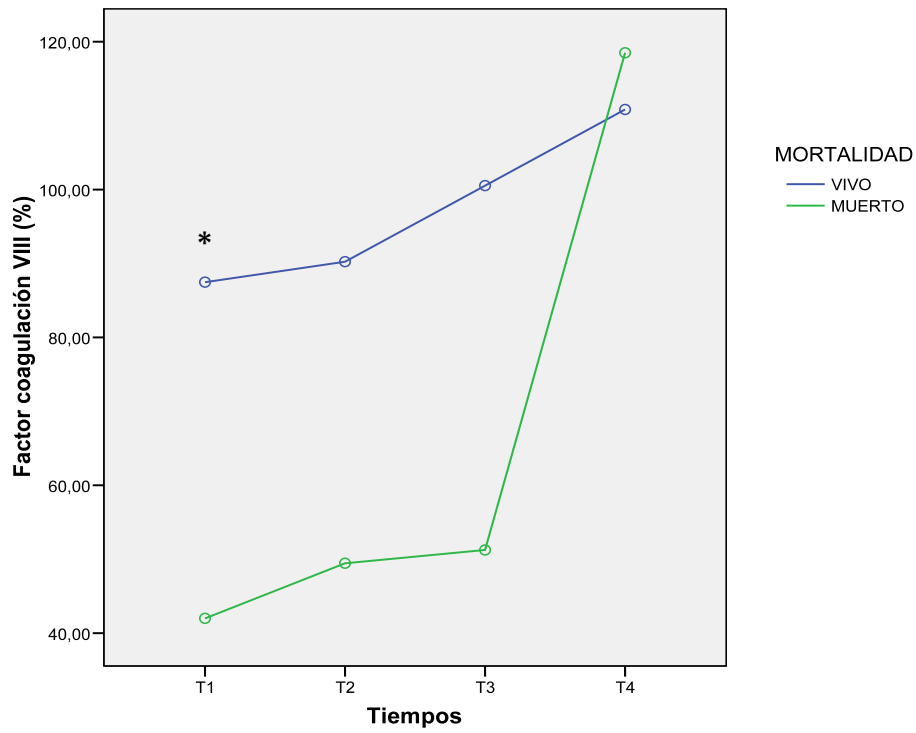
**Figura 27.-** Evolución de las medias de ATIII en cada uno de los tiempos en el grupo de enfermos. . Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como \* $p < 0,05$ .



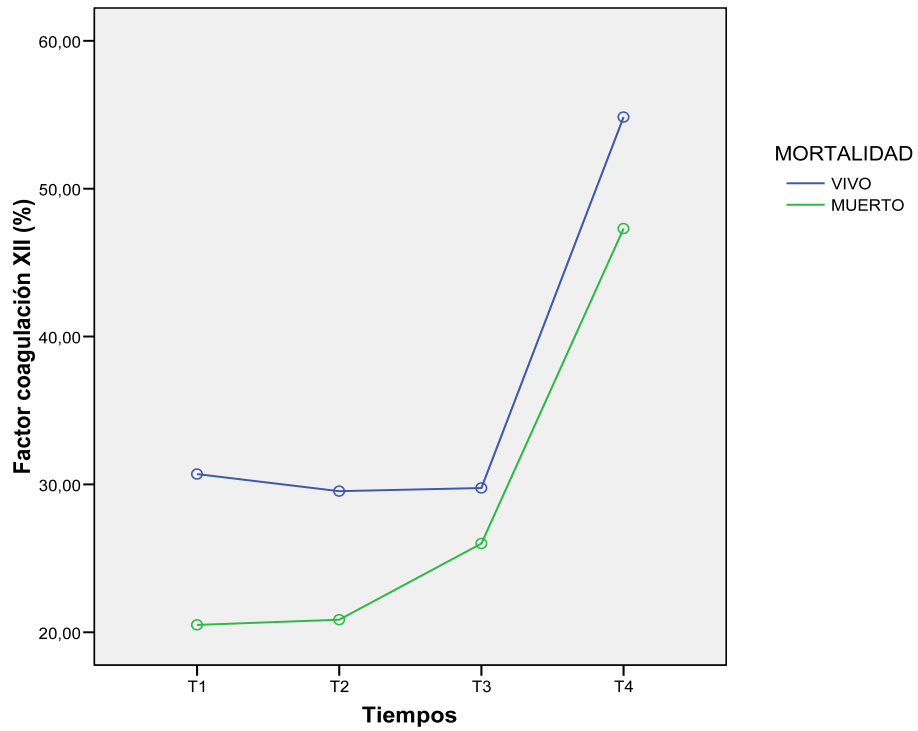
**Figura 28.-** Evolución de las medias de factor de coagulación II en el grupo de enfermos a lo largo de la evolución. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .



**Figura 29.-** Evolución en el tiempo de las medias de factor de coagulación VII en el grupo de enfermos. . Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como \* $p < 0,05$ .



**Figura 30.-** Evolución de las medias de factor de coagulación VIII en el grupo de enfermos. . Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .



**Figura 31.-** Evolución de las medias de factor de coagulación XII en el grupo de enfermos. .  
 Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes  
 tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias  
 estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .

## F) MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LA SEPSIS

## F.1.- COMPARACIÓN CASOS Y CONTROLES

Al estudiar el estrés oxidativo, encontramos que los pacientes sépticos presentan valores superiores de MDA que los pacientes del grupo control, siendo estas diferencias significativas en todos los casos excepto a las 72 horas. No ocurre lo mismo para la actividad XO que no muestra diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de enfermos. Los niveles de GSSG fueron claramente superiores en el grupo de enfermos comparados con los del grupo control en condiciones basales, aunque no se hallaron diferencias significativas en la evolución de los pacientes. Los niveles de GSH fueron significativamente inferiores en los pacientes en todos los tiempos, excepto a nivel basal. El cociente GSSG/GSH, marcador de estrés oxidativo, fue significativamente mayor en los pacientes a todos los tiempos en comparación con los sujetos control. Las tablas 13, 14 y 15 muestran la media y la desviación estándar para las variables de estrés oxidativo en los diferentes tiempos del estudio, comparando los niveles en cada uno de los tiempos estudiados con el grupo control.

	MDA (nmol/ml)	N
<b>CONTROLES</b>	2,07 ± 0,6	6
<b>T1</b>	3,15 ± 1,9 (0,01)	9
<b>T2</b>	3,46 ± 2,03 (0,002)	9
<b>T3</b>	2,90 ± 1,43 (0,408)	5
<b>T4</b>	4,15 ± 3 (0,02)	4

**Tabla 13.-** Comparación de los niveles de MDA entre el grupo de enfermos y el grupo control en cada uno de los diferentes tiempos del estudio. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \* $p < 0,05$ .



	XO (mU/ml)	N
<b>CONTROLES</b>	7,05 ± 3,31	10
<b>T1</b>	3,85 ± 2,37 (0,228)	18
<b>T2</b>	6,37 ± 5,7 (0,207)	16
<b>T3</b>	5,80 ± 4,7 (0,108)	13
<b>T4</b>	6,00 ± 4,3 (0,61)	9

**Tabla 14.-** Comparación de la actividad XO entre el grupo control y el grupo de enfermos en cada uno de los diferentes tiempos del estudio. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.

	GSSG	N	GSH	N	GSSG/GSH	N
<b>CONTROLES</b>	18,9 ± 30,7	9	1,02 ± 0,51	6	0,031 ± 0,033	6
<b>T1</b>	111 ± 106,7 ( <b>0,004</b> )	20	0,26 ± 0,24 (0,116)	4	1,43 ± 2,5 ( <b>0,006</b> )	4
<b>T2</b>	78,2 ± 446,7 (0,239)	17	0,02 ± 0,04 ( <b>0,0001</b> )	17	84,03 ( <b>0,005</b> )	16
<b>T3</b>	72,24 ± 50,7 (0,130)	14	0,01 ± 0,03 ( <b>0,0001</b> )	12	52,6 ± 73 ( <b>0,04</b> )	12
<b>T4</b>	84,2 ± 114,3 (0,184)	13	0,05 ± 0,13 ( <b>0,001</b> )	11	31,1 ± 37,8 ( <b>0,04</b> )	11

**Tabla 15.-** Comparación de los niveles de glutatión en sus dos formas oxidado y reducido y el cociente GSSG/GSH entre el grupo control y el grupo de enfermos en cada uno de los diferentes tiempos del estudio. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.

## F.2.- MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y MORTALIDAD EN EL GRUPO DE ENFERMOS

Los niveles de MDA no sufrieron cambios significativos en función del desenlace de los pacientes. Los niveles iniciales de xantina oxidasa fueron similares en el grupo de pacientes enfermos y, no permitieron diferenciar entre aquellos pacientes que fallecían de los que sobrevivían. Los niveles de GSH a las 24 horas fueron inferiores en los pacientes que fallecían respecto a los que sobrevivían. En las tablas 16 a 19 se recogen los niveles de cada uno de los marcadores estudiados en los diferentes tiempos, diferenciando entre aquellos que

sobreviven (tabla 16, 17 y 18) de los que no sobreviven (tabla 19, 20 y 21), y la relación de cada uno de ellos con el grupo control.

Al analizar los niveles de cada uno de los marcadores entre los grupos de pacientes que vivían en comparación con el grupo de los que fallecían, no encontramos diferencias salvo en los niveles de GSH obtenidos a las 24 horas (tablas 22, 23 y 24).

	<b>MDA (nmol/ml)</b>	<b>N</b>
<b>CONTROLES</b>	2,07 ± 0,6	6
<b>T1</b>	3,48 ± 2,2 (0,003)	6
<b>T2</b>	3,80 ± 2,2 (0,004)	6
<b>T3</b>	2,40 ± 2,07 (0,548)	4
<b>T4</b>	4,60 ± 3,5 (0,003)	3

*Tabla 16.- Niveles de MDA en el grupo de enfermos que sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.*

	<b>XO (mU/ml)</b>	<b>N</b>
<b>CONTROLES</b>	7,05 ± 3,31	10
<b>T1</b>	3,80 ± 2,1 (0,184)	11
<b>T2</b>	5,60 ± 6,6 (0,22)	9
<b>T3</b>	5,20 ± 4,4 (0,268)	8
<b>T4</b>	6,50 ± 4,4 (0,509)	8

*Tabla 17.- Actividad XO en el grupo de enfermos que sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.*

	<b>GSSG</b>	<b>N</b>	<b>GSH</b>	<b>N</b>	<b>GSSG/GSH</b>	<b>N</b>
<b>CONTROLES</b>	18,9 ± 30,7	9	1,02 ± 0,51	6	0,031 ± 0,033	6
<b>T1</b>	136,5 ± 115,6 ( <b>0,009</b> )	14	0,38 ± 0,32 (0,317)	2	2,6 ± 3,5 ( <b>0,0001</b> )	2
<b>T2</b>	88,4 ± 48,6 (0,270)	10	0,03 ± 0,05 ( <b>0,0001</b> )	11	83,3 (0,094)	10
<b>T3</b>	71,3 ± 52,1 (0,269)	9	0,01 ± 0,03 ( <b>0,0001</b> )	8	70,4 ± 86,4	8
<b>T4</b>	95,4 ± 129,1 (0,116)	10	0,06 ± 0,139 ( <b>0,002</b> )	9	31,1 ± 42,3	9

**Tabla 18.-** Niveles de glutatión en sus formas oxidada y reducida, y cociente GSSG/GSH en el grupo de enfermos que sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.

	<b>MDA (nmol/ml)</b>	<b>N</b>
<b>CONTROLES</b>	2,07 ± 0,6	6
<b>T1</b>	2,5 ± 1,08 (0,27)	3
<b>T2</b>	2,8 ± 1,7 ( <b>0,043</b> )	3
<b>T3</b>	5,07	1
<b>T4</b>	2,53	1

**Tabla 19.-** Niveles de MDA en los diferentes tiempos en el grupo de enfermos que no sobreviven y comparación con el grupo control. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.

	<b>XO (mU/ml)</b>	<b>N</b>
<b>CONTROLES</b>	7,05 ± 3,31	10
<b>T1</b>	3,90 ± 2,9 (0,546)	7
<b>T2</b>	7,40 ± 4,5 (0,305)	7
<b>T3</b>	6,78 ± 5,5 (0,044)	5
<b>T4</b>	-	0

**Tabla 20.-** Actividad XO en los diferentes tiempos en el grupo de enfermos que no sobreviven y comparación con el grupo control. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.

## Resultados

	GSSG	N	GSH	N	GSSG/GSH	N
<b>CONTROLES</b>	18,9 ± 30,7	9	1,02 ± 0,51	6	0,031 ± 0,033	6
<b>T1</b>	50,38 ± 48,01 ( <b>0,061</b> )	6	0,20 ± 0,25 (0,317)	2	0,28 ± 0,4 ( <b>0,001</b> )	2
<b>T2</b>	63,6 ± 43,1 (0,259)	7	0,008 ± 0,014 ( <b>0,002</b> )	6	85,1 ( <b>0,03</b> )	6
<b>T3</b>	73,9 ± 54,06 ( <b>0,06</b> )	5	0,003 ± 0,001 ( <b>0,008</b> )	4	17 ± 6,1 ( <b>0,02</b> )	4
<b>T4</b>	46,8 ± 26,5 (0,876)	3	0,002 ± 0,0001 ( <b>0,05</b> )	2	31,07 ± 0,67 ( <b>0,001</b> )	2

**Tabla 21.-** Niveles de glutatión en sus formas oxidada y reducida, y cociente GSSG/GSH en el grupo de enfermos que no sobreviven en los diferentes tiempos y comparación con el grupo control. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \* $p < 0,05$ .

		VIVEN	N	FALLECEN	N	P-VALOR
<b>T1</b>	<b>MDA (nmol/ml)</b>	3,48 ± 2,2	6	2,2 ± 1,08	3	<b>0,065</b>
<b>T2</b>	<b>MDA (nmol/ml)</b>	3,8 ± 2,2	6	2,8 ± 1,7	3	0,367
<b>T3</b>	<b>MDA (nmol/ml)</b>	2,4 ± 2,07	4	5,07	1	-
<b>T4</b>	<b>MDA (nmol/ml)</b>	4,6 ± 3,5	3	2,53	1	-

**Tabla 22.-** Comparación de los niveles MDA en los diferentes tiempos entre los pacientes que viven y los que fallecen. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \* $p < 0,05$ .

		VIVEN	N	FALLECEN	N	P-VALOR
<b>T1</b>	<b>XO (mU/ml)</b>	3,8 ± 2,1	11	3,8 ± 2,9	7	0,654
<b>T2</b>	<b>XO (mU/ml)</b>	5,6 ± 6,6	9	7,4 ± 4,5	7	0,627
<b>T3</b>	<b>XO (mU/ml)</b>	5,2 ± 4,4	8	6,78 ± 5,5	5	0,356
<b>T4</b>	<b>XO (mU/ml)</b>	6,5 ± 4,4	8	2,07	1	-

**Tabla 23.-** Comparación de la actividad XO en los diferentes tiempos entre los pacientes que viven y los que fallecen. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \* $p < 0,05$ .

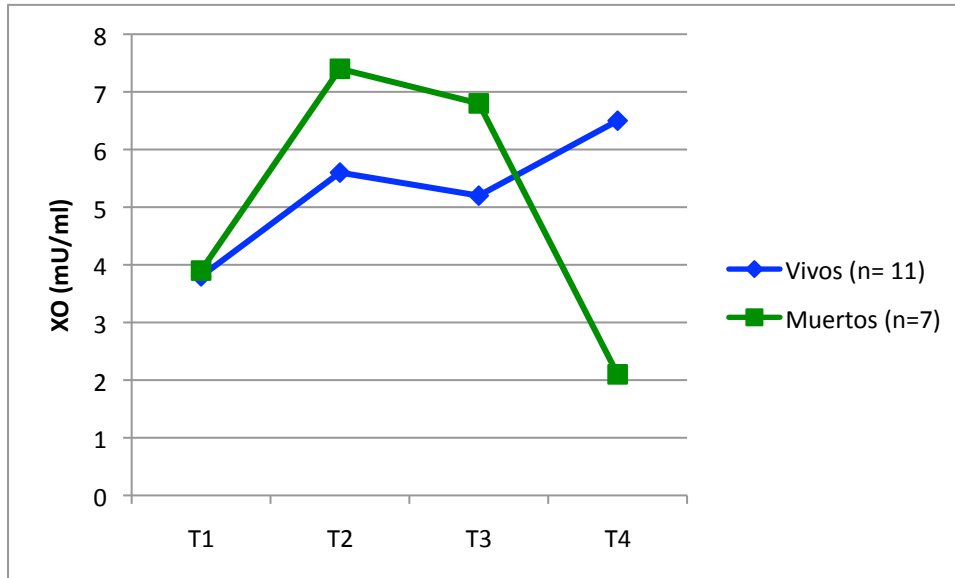
		VIVEN	N	FALLECEN	N	P-VALOR
T1	GSSG (nmol/ml)	136,5 ± 115,6	14	50,38 ± 48,01	6	0,110
	GSH (µmol/ml)	0,38 ± 0,32	2	0,20 ± 0,25	2	<b>0,0001</b>
	GSSG/GSH	2,6 ± 3,5	2	0,28 ± 0,4	2	<b>0,0001</b>
T2	GSSG (nmol/ml)	88,4 ± 48,6	10	63,6 ± 43,1	7	0,918
	GSH (µmol/ml)	0,03 ± 0,05	11	0,008 ± 0,014	6	<b>0,02</b>
	GSSG/GSH	83,3	10	85,1	6	0,626
T3	GSSG (nmol/ml)	71,3 ± 52,1	9	73,9 ± 54,06	5	0,668
	GSH (µmol/ml)	0,01 ± 0,03	8	0,003 ± 0,001	4	0,162
	GSSG/GSH	70,4 ± 86,4	8	17 ± 6,08	4	0,137
T4	GSSG (nmol/ml)	95,4 ± 129,1	10	46,8 ± 26,5	3	0,349
	GSH (µmol/ml)	0,06 ± 0,139	9	0,002 ± 0,0001	2	0,238
	GSSG/GSH	31,1 ± 42,3	9	31,07 ± 0,67	2	0,167

*Tabla 24.- Comparación de los niveles de glutatión en sus dos formas, oxidada y reducida, y del cociente GSSG/GSH en los diferentes tiempos entre los pacientes que viven y los que fallecen. Análisis mediante Prueba t para datos independientes. La diferencia estadísticamente significativa entre los grupos se indica como \*p < 0,05.*

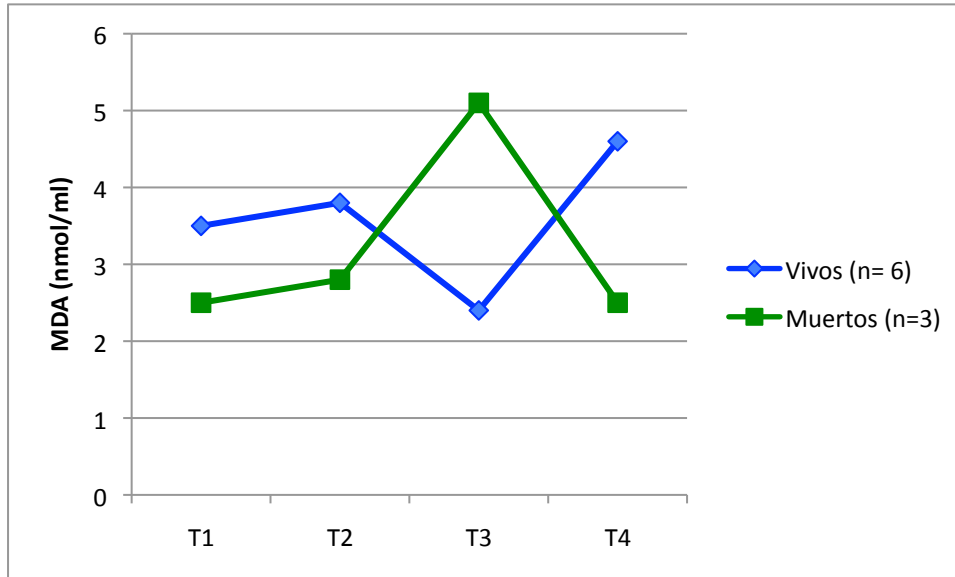
### F.3.- EVOLUCIÓN DE LOS MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y MORTALIDAD

La actividad XO se estudió a lo largo de la evolución clínica, a las 24, 48, 72 horas y al alta o en el momento previo al exitus. En la figura 32 podemos ver las medias de la variable estudiada en los diferentes tiempos en los pacientes enfermos.

En la figura 33 se muestra la evolución de los niveles de MDA a lo largo del tiempo. Observamos que aunque tienden a ser más elevados los niveles que corresponden al grupo de pacientes que sobreviven al proceso séptico respecto a los que fallecen, las diferencias no fueron significativas.

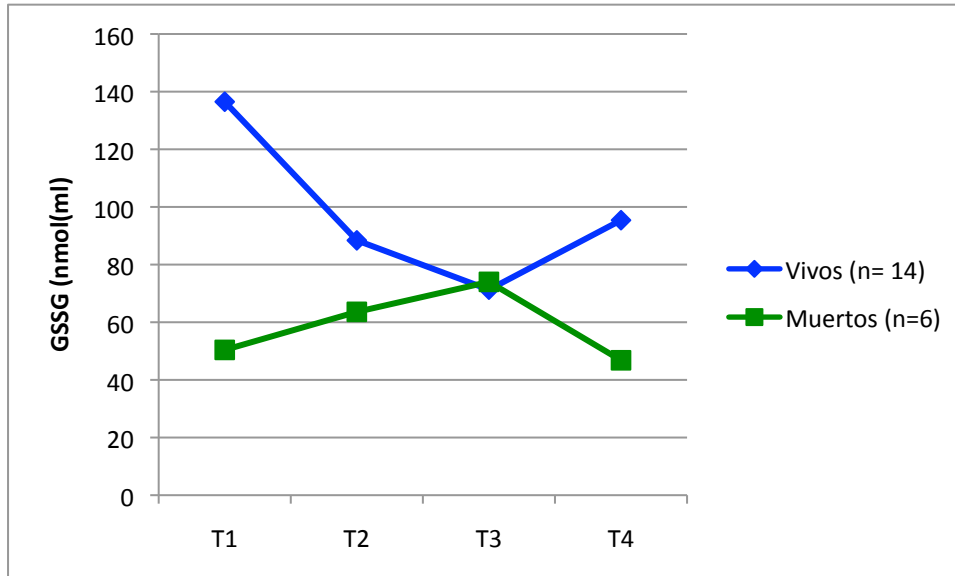


**Figura 32.-** Evolución de las medias de la actividad Xantina Oxidasa a lo largo del tiempo de estudio. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .



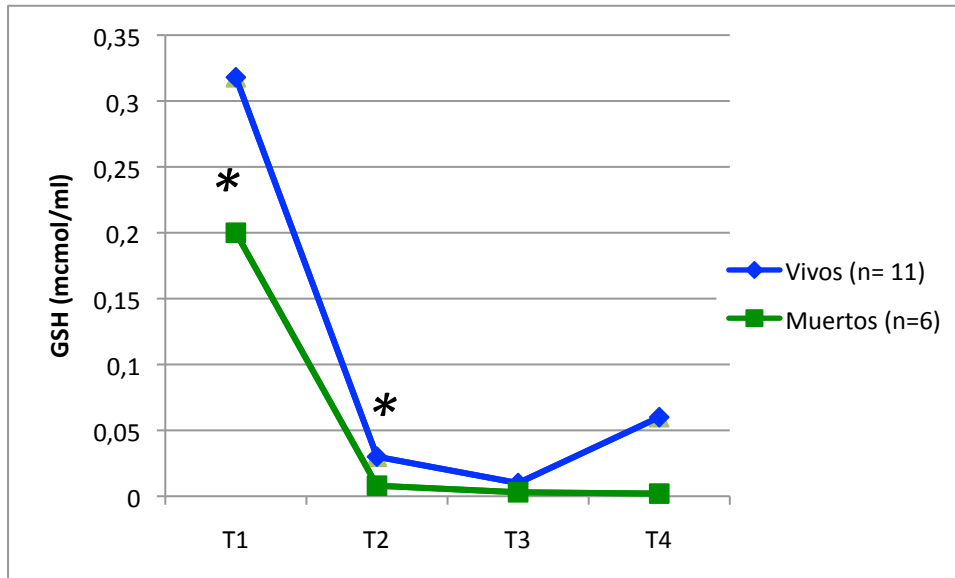
**Figura 33.-** Evolución de las medias de los niveles de Malondialdehído a lo largo del tiempo del estudio. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como \* $p < 0,05$ .

Aunque los niveles de glutatión oxidado tendieron a ser superiores en las primeras 48 horas en los pacientes que sobreviven, las diferencias no fueron significativas (figura 34). En cuanto a los niveles de glutatión reducido observamos valores inferiores en los pacientes que fallecen a nivel basal y a las 48 horas, (figura 35). El cociente GSSG/GSH muestra un perfil variable sin diferencias estadísticamente significativas (figura 36).

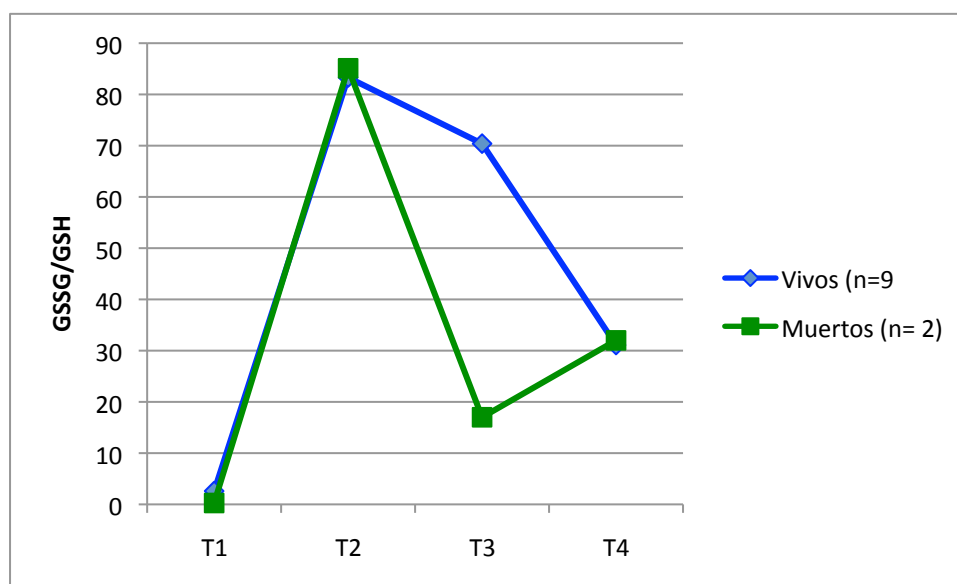


**Figura 34.-** Evolución de las medias de los niveles de glutatión en su forma oxidada a lo largo del tiempo de estudio. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .





**Figura 35.-** Evolución de las medias de los niveles de glutatión en su forma reducida a lo largo del tiempo de estudio. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como \* $p < 0,05$ .



**Figura 36.-** Evolución de las medias de los niveles de GSSG/GSH a lo largo del tiempo de estudio. Comparación entre grupo de pacientes que sobreviven y los que no sobreviven en los diferentes tiempos. Análisis mediante test T student para muestras independientes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se indican como  $*p < 0,05$ .

#### G) CORRELACIÓN ENTRE LOS DISTINTOS MARCADORES Y LOS SCORES DE GRAVEDAD

Se realizó un análisis estadístico comparativo en el que se evaluó el coeficiente de correlación de las variables por pares, en el grupo de enfermos.

Se valoró la relación de los diferentes parámetros de coagulación, de las citoquinas y los marcadores de estrés oxidativo con los scores de gravedad APACHE II y SOFA.

## G.1.- MARCADORES DE COAGULACIÓN

Se observó una correlación entre AT III y el SOFA score, con un p-valor inferior a 0,05, por el contrario no se observó correlación significativa entre la AT III y el APACHE II.

Para la Proteína C, no se observó correlación con ninguno de los scores utilizados (Tabla 25).

	SOFA	APACHE II
AT III (%)	r= 0,569 (p 0,005)	R= 0,051 (p 0,817)
PROTEÍNA C (%)	R= - 0,1693 (p 0,463)	R= -0,101 (p 0,663)

**Tabla 25.-** Correlación de los niveles de anticoagulantes naturales con los scores de gravedad. Test de correlación lineal, con nivel de significación estadística  $p < 0,05$

## G.2.- MARCADORES DE INFLAMACIÓN

Únicamente se observa una correlación significativa entre el cociente IL-10 / TNF- $\alpha$  y el SOFA score. Con el resto de citoquinas no encontramos correlación alguna con el SOFA ni con el APACHE II (Tabla 26).

	SOFA	APACHE II
IL-6 (pg/ml)	0, 228 (p 0,307)	0,293 (p 0,186)
IL-8 (pg/ml)	0,234 (p 0,296)	0,386 (p 0,076)
IL-10 (pg/ml)	0, 331 (p 0,132)	0,175 (p 0,436)
TNF- $\alpha$ (pg/ml)	0,015 (p 0,948)	0,056 (p 0,803)
IL-10/ TNF- $\alpha$	0.457 (p 0,03)	0,206 (p 0,357)

**Tabla 26.-** Correlación de los niveles de citoquinas y los scores de gravedad y p-valor test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ .

### G.3.- MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

No se observa relación entre la XO, el MDA ni el glutatión como marcadores de estrés oxidativo y los *scores* de gravedad (Tabla 27).

	SOFA	APACHE II
<b>XANTINA OXIDASA (mU/ml)</b>	0,105 (p 0,670)	-0,025 (p 0,91)
<b>MALONDIALDEHÍDO (nM/ml)</b>	0,037 (p 0,925)	0,193 (p 0,618)
<b>GSSG/GSH</b>	0,209 (p 0,736)	0,139 (p 0,823)

**Tabla 27.-** Correlación de los niveles de parámetros de estrés oxidativo y los scores de gravedad y p-valor test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$

### H) CORRELACIÓN DE MARCADORES DE INFLAMACIÓN CON PARÁMETROS CLÍNICOS EN EL GRUPO DE PACIENTES SÉPTICOS

#### H.1.- DISFUNCIÓN HEMODINÁMICA

	IC (l/min/m <sup>2</sup> )	GEF (%)	dPmax
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	-0,450 (p 0,047)	-0,664 (p 0,007)	-0,328 (p 0,274)
<b>IL-8 (pg/ml)</b>	-0,545 (p 0,013)	-0,528 (p 0,043)	-0,212 (p 0,487)
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	-0,292 (p 0,212)	-0,443 (p 0,098)	0,096 (p 0,755)
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	-0,507 (p 0,023)	-0,574 (p 0,025)	-0,190 (p 0,534)
<b>IL-10/ TNF-<math>\alpha</math></b>	-0,157 (p 0,508)	-0,331 (p 0,228)	-0,156 (p 0,611)

**Tabla 28.-** Correlación de las citoquinas con parámetros de evaluación de la función cardiaca y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ .

IC = Índice cardiaco; GEF = Fracción de eyección global; dP/dt<sub>máx</sub> = velocidad de aumento de la presión ventricular pico.

Se realizó un análisis de correlación para determinar la magnitud de la relación existente entre los diferentes marcadores de inflamación y los parámetros que valoran la función cardiaca. Se observó una buena correlación entre los niveles de IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$  con el valor del IC, y con la fracción de eyección global, aunque no con el dPmax como índice de contractilidad miocárdica. (Tabla 28).

## H.2.- DISFUNCIÓN RENAL

El análisis de la correlación entre los diferentes marcadores de inflamación y la función renal reveló una asociación entre los niveles de Creatinina sérica y la IL-8, pero una falta de asociación con el resto de citoquinas. (Tabla 29).

	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IL-10/ TNF- $\alpha$
Cr	0,219 (0,327)	0,433 (0,04)	0,231 (0,30)	0,208 (0,354)	0,190 (0,397)

**Tabla 29.-** Correlación de las citoquinas con parámetros de función renal y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ , Cr = Creatinina (mg/dl).

## H.3.- MARCADORES DE INFLAMACIÓN Y PROCALCITONINA

	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- $\alpha$	IL-10/ TNF- $\alpha$
PCT	0,499 (0,018)	0,551 (0,008)	0,203 (0,377)	0,030 (0,897)	0,346 (0,125)
PCR	-0,191 (0,434)	-0,087 (0,722)	-0,138 (0,573)	-0,130 (0,596)	-0,126 (0,607)
Láctico	0,692 (0,0001)	0,470 (0,027)	0,648 (0,001)	0,722 (0,00001)	0,491 (0,02)
Cl Lac	0,385 (0,104)	0,298 (0,216)	0,078 (0,751)	0,112 (0,649)	0,025 (0,918)
SvO <sub>2</sub>	-0,141 (0,577)	-0,084 (0,741)	-0,155 (0,539)	-0,138 (0,586)	-0,145 (0,567)
PAM	-0,304 (0,108)	-0,345 (0,126)	-0,228 (0,320)	0,072 (0,758)	-0,165 (0,476)

**Tabla 30.-** Correlación de las citoquinas con parámetros de perfusión tisular, inflamación y procalcitonina y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ . PCT = Procalcitonina. PCR= Proteína C reactiva. Cl Lac = Aclaramiento de lactato. PAM = Presión arterial media.

Se estudió la correlación existente entre las citoquinas estudiadas y los marcadores de inflamación, infección y marcadores de perfusión tisular más utilizados en la práctica clínica. Encontramos una asociación positiva entre todas las citoquinas y los niveles de lactato, con un p-valor < 0,05. Así mismo, existe una asociación entre las citoquinas IL-6 e IL-8 y los valores de procalcitonina. Se observa una falta de correlación para el resto de parámetros estudiados. (Tabla 30).

### I) CORRELACIÓN DE MARCADORES DE COAGULACIÓN CON PARÁMETROS CLÍNICOS EN EL GRUPO DE PACIENTES SÉPTICOS

#### I.1.- MARCADORES DE PERFUSIÓN TISULAR Y PROCALCITONINA

	PROTEÍNA C (%)	AT III (%)	FACTOR XII (%)
<b>PCT (ng/ml)</b>	-0,174 (0,462)	<b>0,532 (0,013)</b>	0,360 (0,130)
<b>PCR (mg/l)</b>	-0,118 (0,641)	0,170 (0,486)	-0,353 (0,165)
<b>Láctico (mmol/l)</b>	-0,344 (0,149)	0,076 (0,744)	0,197 (0,420)
<b>Cl lactato (%)</b>	-0,129 (0,622)	-0,400 (0,111)	-0,212 (0,384)
<b>SvO2 (%)</b>	-0,154 (0,542)	-0,098 (0,689)	-0,211 (0,415)
<b>PAM (mmHg)</b>	0,279 (0,234)	0,225 (0,315)	0,259 (0,270)

*Tabla 31.- Correlación de los anticoagulantes y el factor XII con parámetros de inflamación, perfusión tisular y procalcitonina y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ . . PCT = Procalcitonina. PCR= Proteína C reactiva. Cl Lac = Aclaramiento de lactato. PAM = Presión arterial media.*

Los parámetros de coagulación evaluados, mostraron una buena correlación con los niveles de lactato, como marcador de perfusión tisular. La relación entre los niveles de procalcitonina y AT III también fue significativa, no ocurriendo lo mismo para la proteína C ni con el factor XII. No se observa relación

entre los parámetros de coagulación y el resto de marcadores utilizados habitualmente en la práctica clínica diaria (tabla 31).

## I.2.- AGREGACIÓN PLAQUETAR Y NÚMERO DE PLAQUETAS

Se observa una correlación inversa entre la agregación inducida tanto por el col/ADP como col/EPI y el número de plaquetas en los pacientes sépticos, aunque únicamente con significación estadística para el col/ADP (Tabla 32).

<b>PFA ADP (seg)</b>	<b>-0,469 (0,004)</b>
PFA EPI (seg)	-0,238 (0,299)

*Tabla 32.- Correlación entre la agregación inducida por col/ADP y col EPI y el número de plaquetas y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$*

## J) CORRELACIÓN ENTRE MARCADORES DE INFLAMACIÓN Y COAGULACIÓN

Al relacionar parámetros de inflamación estudiados con los de coagulación, no podemos garantizar que exista relación entre las citoquinas estudiadas y los factores de coagulación II, VII, VIII y XII. Únicamente observamos una correlación negativa entre los niveles de IL-6 y los de proteína C (Tabla 33).

No se observa una correlación entre los dos anticoagulantes naturales, el sistema de la Proteína C y la AT III, ni con la Proteína C y la homocisteína. Por el contrario existe una buena correlación entre la proteína C y su co-factor proteína S. (tabla 34).

## Resultados

	IL-6	IL-8	IL-10	TNF- $\alpha$	IL-10/TNF- $\alpha$
<b>PROT C (%)</b>	-0,611 (0,004)	-0,253 (0,281)	-0,255 (0,278)	-0,263 (0,262)	-0,166 (0,485)
<b>AT III (%)</b>	0,178 (0,427)	0,117 (0,604)	0,326 (0,139)	0,101 (0,655)	0,354 (0,106)
<b>FII (%)</b>	-0,202 (0,422)	-0,039 (0,877)	-0,181 (0,472)	-0,185 (0,462)	-0,113 (0,65)
<b>FVII (%)</b>	-0,071 (0,774)	0,457 (0,049)	-0,125 (0,611)	-0,160 (0,513)	0,111 (0,650)
<b>F VIII (%)</b>	-0,100 (0,674)	0,121 (0,610)	-0,05 (0,833)	-0,09 (0,69)	0,030 (0,90)
<b>FXII (%)</b>	-0,065 (0,78)	0,093 (0,697)	0,097 (0,684)	0,164 (0,490)	0,318 (0,171)

**Tabla 33.-** Correlación entre marcadores de coagulación y los marcadores de inflamación y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ .

	AT III (%)	PROTEINA S (%)	HCY ( $\mu$ M)
<b>PROTEINA C (%)</b>	0,17 (0,942)	0,471 (0,031)	0,179 (0,450)

**Tabla 34.-** Correlación de los anticoagulantes naturales entre sí y con la homocisteína y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ .

### K) CORRELACIÓN DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO CON PARÁMETROS CLÍNICOS Y RESTO DE MARCADORES

#### K.1.- ESTRÉS OXIDATIVO Y MARCADORES DE PERFUSIÓN TISULAR

Al relacionar los parámetros de estrés oxidativo con los marcadores de inflamación, infección y perfusión tisular, únicamente observamos una correlación entre la actividad de XO y la SvO<sub>2</sub>, y no con los niveles de lactato como reflejo de la isquemia tisular (tabla 35).



	XO (mU/ml)	MDA (µM/l)
<b>PCT (ng/ml)</b>	0,275 (0,254)	-0,086 (0,826)
<b>PCR (mg/l)</b>	0,017 (0,949)	-0,212 (0,584)
<b>Láctico (mmol/l)</b>	-0,015 (0,953)	-0,549 (0,126)
<b>Cl lactato (%)</b>	-0,068 (0,802)	-0,368 (0,369)
<b>SvO2 (%)</b>	0,646 (0,007)	0,174 (0,679)
<b>PAM (mmHg)</b>	0,162 (0,521)	0,057 (0,884)

**Tabla 35.-** Correlación de los marcadores de estrés oxidativo con parámetros de inflamación, perfusión tisular y procalcitonina y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ . PCT = Procalcitonina. PCR= Proteína C reactiva. Cl Lac = Aclaramiento de lactato. PAM = Presión arterial media.

## K.2.- ESTRÉS OXIDATIVO Y DISFUNCIÓN HEMODINÁMICA Y RENAL

### K.2.1.- DISFUNCIÓN CARDIACA

		MDA (T1)	MDA (T2)	XO (T1)	XO (T2)
<b>Vivos</b>	<b>GEF (%)</b>	0,99 (0,07)	1 ( <b>0,001</b> )	-0,715 (0,07)	-0,567 (0,32)
	<b>IC (l/min/m<sup>2</sup>)</b>	0,70 (0,121)	-0,650 (0,236)	-0,373 (0,258)	-0,425 (0,294)
	<b>dPmax</b>	0,98 (0,119)	-0,764 (0,446)	-0,07 (0,89)	-0,244 (0,641)
<b>Fallecidos</b>	<b>GEF (%)</b>	0,99 (0,09)	0,979 (0,132)	0,299 (0,625)	-0,104 (0,844)
	<b>IC (l/min/m<sup>2</sup>)</b>	0,923 (0,251)	0,819 (0,389)	0,841 ( <b>0,003</b> )	0,498 (0,314)
	<b>dPmax</b>	1 ( <b>0,001</b> )	1 ( <b>0,001</b> )	0,882 (0,118)	0,502 (0,389)

**Tabla 36.-** Correlación entre los parámetros de estrés oxidativo y la disfunción miocárdica y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ . IC = Índice cardiaco; GEF = Fracción de eyección global; dP/dt<sub>máx</sub> = velocidad de aumento de la presión ventricular pico.

Encontramos una relación entre los niveles de MDA y un parámetro de hipocontractilidad cardiaca, dPmax, en los pacientes que fallecían, y ésta relación se mantenía a las 48 horas. Por el contrario, únicamente observamos una relación

entre la XO y la hipocontractilidad cardiaca en aquellos pacientes que fallecieron (Tabla 36).

### K.2.2.- DISFUNCIÓN RENAL

Para la función renal, encontramos una relación entre los niveles iniciales de XO y las cifras de creatinina plasmática (Tabla 37).

	Creatinina (mg/dl)	Urea (mg/dl)
<b>XO (mU/ml)</b>	<b>0,524 (0,026)</b>	0,385 (0,114)
<b>MDA (nM/ml)</b>	-0,224 (0,564)	0,194 (0,616)

**Tabla 37.-** Correlación de los marcadores de estrés oxidativo con parámetros función renal y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ .

### K.3.- ESTRÉS OXIDATIVO Y MARCADORES DE INFLAMACIÓN Y COAGULACIÓN

	IL-10 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-8 (pg/ml)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)
<b>XO (mU/ml)</b>	-0,234 (0,350)	-0,04 (0,875)	0,244 (0,330)	0,178 (0,480)
<b>MDA (nM/ml)</b>	-0,457 (0,216)	-0,347 (0,361)	-0,624 (0,07)	-0,615 (0,07)

	FACTOR II	FACTOR VII	FACTOR VIII	FACTOR XII
<b>XO (mU/ml)</b>	0,070 (0,803)	0,043 (0,874)	-0,025 (0,927)	0,277 (0,299)
<b>MDA (nM/ml)</b>	-0,562 (0,147)	-0,677 (0,065)	-0,183 (0,665)	-0,395 (0,333)

**Tabla 38.-** Correlación de los marcadores de estrés oxidativo con los marcadores de coagulación y las citoquinas y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ .

Se relacionaron los parámetros de estrés oxidativo con los parámetros de inflamación y coagulación, no observándose correlación significativa en ningún

caso (Tabla 38).

## L) HOMOCISTEÍNA

### L.1.- CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y EL ESTADO NUTRICIONAL

Encontramos una estrecha correlación entre las concentraciones de vitamina B12 y los niveles de homocisteína en el grupo de pacientes sépticos, sin encontrar relación con los niveles de ácido fólico (Tabla 39).

	VITAMINA B12 (pg/ml)	ÁCIDO FÓLICO (ng/ml)
HCY (μM)	0,793 (0,001)	-0,068 (0,825)

*Tabla 39.- Relación de los niveles de homocisteína con la Vitamina B12 y el ácido fólico y p-valores test independencia (correlación). Nivel de significación estadística  $p < 0,05$ .*

### L.2.- CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y LOS MARCADORES DE INFLAMACIÓN, COAGULACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO

Cuando estudiamos los niveles plasmáticos de homocisteína y los marcadores de inflamación, no encontramos ninguna correlación entre ellos. Igualmente, tampoco se observa una correlación entre los niveles de MDA al ingreso y los niveles de homocisteína. Respecto a los marcadores de coagulación, sí que se observan correlaciones significativas. (Tabla 40)

## Resultados

	<b>IL10 (pg/ml)</b>	<b>IL-6 (pg/ml)</b>	<b>IL-8 (pg/ml)</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	<b>IL-10/ TNF-<math>\alpha</math></b>
<b>HCY (<math>\mu</math>M)</b>	-0,043	-0,147	-0,010	-0,186	0,102

	<b>PC (%)</b>	<b>PS (%)</b>	<b>AT III (%)</b>	<b>FAC II (%)</b>	<b>FAC VII (%)</b>
<b>HCY (<math>\mu</math>M)</b>	0,102	-0,242	0,243	0,196	<b>0,353 (P 0,02)</b>

	<b>FAC VIII (%)</b>	<b>FAC XII (%)</b>	<b>MDA (nM/ml)</b>	<b>XO (mU/ml)</b>
<b>HCY (<math>\mu</math>M)</b>	<b>0,315 (P 0,04)</b>	0,009	<b>-0,481 (0,06)</b>	-0,080

**Tabla 40.-** Relación de los niveles de homocisteína con los marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo. Se muestra el p-valor de las correlaciones en los casos en que están próximos a ser significativos ( $p < 0,05$ ).

M) ESTUDIO DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS EN AQUELLOS PACIENTES SOMETIDOS A TÉCNICAS DE DEPURACIÓN RENAL CONTINUA (TDRC)

De los pacientes sépticos incluidos en el estudio, 8 de ellos precisaron TDRC (33,3%) y 15 de ellos no ( 66,6 %).

M.1.- COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES PARÁMETROS EN EL MOMENTO DE INCLUSIÓN EN AQUELLOS PACIENTES EN LOS QUE SE INSTAURARON TDRC AL INGRESO

No observamos diferencias estadísticamente significativas entre los marcadores estudiados en pacientes que precisaron TDRC y aquellos que no lo precisaron En las tablas siguientes: tabla 41, tabla 42 y tabla 43, se detalla el valor de la media +/- desviación típica para las variables continuas que podemos comparar utilizando métodos paramétricos, y la mediana y el rango para aquellas variables continuas que vamos a comparar mediante la prueba de Mann-Whitney. En la última columna de la tabla, se muestra el p-valor resultante de comparar en cada caso la variable entre casos y controles, con el método adecuado.

	TDRC	n	NO TDRC	n	p-valor
<b>PLAQUETAS (10<sup>3</sup>/μl)</b>	158125 ± 2,95E10	8	204583 ± 94070	14	0,439
<b>PROTEÍNA C (%)</b>	37,5 ± 10	7	26,27 ± 12,3	14	0,310
<b>PROTEÍNA S (%)</b>	45,25 (41,87-108,1)	7	47,6 (33,2-63,4)	14	1
<b>FACTOR II (%)</b>	43,22 ± 10	7	46,9 ± 8,4	12	0,416
<b>FACTOR VII (%)</b>	28,2 (21,20- 50,65)	7	43 (33,5 – 53,6)	13	0,31
<b>FACTOR VIII (%)</b>	76,8 ± 38,3	7	70,3 ± 27,3	14	0,761
<b>FACTOR XII (%)</b>	31,5 ± 11,96	7	29,3 ± 10,4	14	0,782
<b>AT III (%)</b>	52,5 (41,2-76,4)	8	50 (38-59)	15	0,744
<b>PFA 100 ADP (seg)</b>	173,5 ± 104,36	6	152 ± 100,63	13	0,513
<b>PFA 100 EPI (seg)</b>	239,5 (159,75-300)	8	157 (103-300)	13	0,077
<b>HCY (μM)</b>	7,26 (5,4-21)	6	9,7 (6,1-14,5)	15	0,661

**Tabla 41.-** Diferencias entre los parámetros de coagulación en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes y mediante test U de Mann Whitney, con nivel de significación  $p < 0,05$ .

	<b>TDRC</b>	<b>n</b>	<b>NO TDRC</b>	<b>n</b>	<b>p-valor</b>
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	2,05 (1-250)	8	1 (1-170)	14	0,673
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	1020,6 (606,3-4280)	8	1187 (569-4190)	14	0,816
<b>IL-8 (pg/ml)</b>	104,3 (42,7-1553,6)	8	178,4 (46,8-480,75)	14	0,938
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	287,75 (164-544)	8	168,4 (133-237,2)	14	0,064
<b>IL-10/TNF-<math>\alpha</math></b>	0,01 (0,007-0,71)	8	0,01 (0,009-0,72)	14	0,875

**Tabla 42.-** Diferencias entre los parámetros de inflamación en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Comparación de medias mediante test U de Mann Whitney con nivel de significación  $p < 0,05$ .

	<b>TDRC</b>	<b>n</b>	<b>NO TDRC</b>	<b>n</b>	<b>p-valor</b>
<b>XO (mU/ml)</b>	3,85 (0,9-3,82)	6	3 (2,05-5,88)	12	0,841
<b>MDA (nM/ml)</b>	2,91 (1,43-2,9)	2	2,11 (1,73-5)	7	0,77
<b>GSSG (nmol/ml)</b>	73,7 $\pm$ 26,15	5	123 $\pm$ 121	15	0,043
<b>GSH (<math>\mu</math>mol/ml)</b>	-	0	0,26 $\pm$ 0,24	4	-
<b>GSSG/GSH</b>	0,53	1	1,8 $\pm$ 2,3	4	-

**Tabla 43.-** Diferencias entre los parámetros de estrés oxidativo en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Comparación de medias mediante Prueba t para datos independientes con nivel de significación  $p < 0,05$ .

## M.2.- COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES PARÁMETROS A LAS 48 HORAS EN AQUELLOS PACIENTES EN LOS QUE SE INSTAURARON TDRC LAS 24 HORAS PREVIAS

Se estudiaron los diferentes parámetros de coagulación y marcadores de inflamación y estrés oxidativo a las 48 horas del inicio de las TDRC, valorando la

diferencia entre el valor inicial (a las 24 horas) y a las 48 horas. En las siguientes tablas se muestra la comparación de las medias de las diferentes variables, con el intervalo de confianza al 95% de la diferencia de las medias y su p-valor. En la última columna, se muestra el p-valor al comparar las diferentes variables entre aquellos pacientes sometidos a TDRC y los que no la precisaron.

	TDRC	Media T1	Media T2	Dif. medias	IC 95% de la dif.	p-valor dif.	p-valor
<b>PCR (mg/l)</b>	SI (n=4)	206,7	272,4	-65,7	[(-153)-21,6]	0,096	0,604
	NO (n=10)	244,5	250	-5,37	[(-92,3)-81,58]	0,892	
<b>Láctico (mmol/l)</b>	SI (n=5)	2,7	2,32	0,45	[(-2,4)-3,3]	0,684	0,302
	NO (n=11)	3,1	1,94	1,16	[(0,21)-2,1]	0,021	
<b>PCT (ng/ml)</b>	SI (n=6)	26,2	17,5	8,7	[(-15,5)-33]	0,398	0,941
	NO (n=9)	35,3	20,12	15,2	[(-0,4)-30,8]	0,05	
<b>BNP (pg/ml)</b>	SI (n=5)	649	713,2	-64	[(-1104)-976]	0,857	0,343
	NO (n=11)	777,5	770,3	7,22	[(-288)-302,4]	0,956	

**Tabla 44.-** Diferencias entre PCR, Procalcitonina, Láctico y BNP a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Comparación de grupos (24 y 48 horas), con la diferencia de las medias y su p-valor. Análisis mediante Prueba t de Student para datos relacionados. Comparación entre los sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Análisis mediante Prueba t de Student para datos independientes. Nivel de significación  $p < 0,05$ . PCT = Procalcitonina. PCR= Proteína C reactiva. BNP = Péptido natriurético B.

	TDRC	Media T1	Media T2	Dif. medias	IC 95% de la dif.	p-valor dif.	p-valor
<b>Plaquetas</b> (10 <sup>3</sup> /μl)	SI (n=6)	177,5	160	17,5	[(-230)-265]	0,863	0,141
	NO (n=9)	185,5	159,6	25,8	[(-13,5)-65]	0,168	
Proteína C (%)	SI (n=5)	36,8	49,6	-12,8	[(-28)-2,2]	0,077	0,611
	NO (n=11)	29,5	30,36	-0,81	[(-7,3)-5,6]	0,784	
Proteína S (%)	SI (n=5)	71,5	68,4	3,08	[(-19,8)-26]	0,728	0,849
	NO (n=11)	53,5	61,9	-8,4	[(-20,5)-3,6]	0,150	
Factor II (%)	SI (n=5)	42,5	41,5	1,02	[(-24)-26]	0,915	0,355
	NO (n=9)	47,5	48,3	-0,81	[(-10,6)-9]	0,854	
Factor VII (%)	SI (n=5)	51,7	51	0,66	[(-32,5)-34]	0,959	0,242
	NO (n=10)	56,2	55,7	0,47	[(-9)-10]	0,914	
Factor VIII (%)	SI (n=5)	73,8	78,1	-4,28	[(-72,5)-64]	0,870	0,001
	NO (n=10)	72,9	80	-7,28	[(-17)-2,34]	0,121	
Factor XII (%)	SI (n=5)	35,2	34	1,18	[(-22,7)-25]	0,898	0,028
	NO (n=10)	28,5	30,8	-2,31	[(-5,1)-55]	0,101	
AT III (%)	SI (n=6)	60,9	47,4	13,5	[(-15,7)-43]	0,288	0,387
	NO (n=12)	51,6	54,3	-2,61	[(-16)-10,6]	0,673	
HCY (μM)	SI (n=3)	10,3	15,54	-5,2	[(-21,3)-11]	0,300	0,550
	NO (n=12)	11,7	14,8	-3,1	[(-10)-3,9]	0,345	

**Tabla 45.-** Diferencias entre los parámetros de coagulación a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Comparación de grupos (24 y 48 horas), con la diferencia de las medias y su p-valor. Análisis mediante Prueba t de Student para datos relacionados. Comparación entre los sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Análisis mediante Prueba t de Student para datos independientes. Nivel de significación  $p < 0,05$ . HCY =homocisteína.

Los niveles de PCR son superiores a las 48 horas en los pacientes sometidos a TDRC, aunque sin ser estadísticamente significativo. Por el contrario, se observa un mayor descenso tanto de los niveles de lactato como de procalcitonina en aquellos pacientes que no precisan de técnicas de soporte renal, con un nivel de significación estadística. Al comparar tanto el BNP, el láctico, la procalcitonina y el BNP entre ambos grupos, las diferencias no son estadísticamente significativas (tabla 44).



Los niveles de los factores de coagulación II, VII y XII a las 48 horas son muy similares a las 24 horas previas, mientras que los niveles de factor VIII son superiores a las 48 horas, aunque sin significación estadística. Cuando comparamos la diferencia de las medias los niveles de factor VIII y XII presentan valores superiores en aquellos pacientes que no precisan TDRC con una significación estadística. Los niveles de proteína C y los de homocisteína se elevan a las 48 horas pero ni la diferencia de las medias ni las medias entre pacientes con TDRC mostraron significación estadística (Tabla 45).

Se observan diferencias entre los niveles de citoquinas a las 24 y 48 horas, siendo esta diferencia de las medias significativa para la IL-6 en pacientes sin TDRC. Cuando estudiamos las medias de los niveles de citoquinas entre aquellos pacientes que precisan terapia de sustitución renal comparando con los que no precisan, observamos un descenso importante de los niveles de IL-8 y TNF- $\alpha$  en pacientes con TDRC, siendo estadísticamente significativo para ambas (tabla 46).

	TDRC	Media T1	Media T2	Dif. medias	IC 95% de la dif.	p-valor dif.	p-valor
<b>IL-10 (pg/ml)</b>	SI (n=5)	1,4	13	-11,6	[(-45)-22]	0,393	0,141
	NO (n=10)	54,1	18,7	35,4	[(-25,1)-96]	0,218	
<b>IL-6 (pg/ml)</b>	SI (n=5)	868,8	1708	-839,4	[(-3727)-2047]	0,465	0,611
	NO (n=11)	2097	1258	1357	[(-72,5)-1750]	0,06	
<b>IL-8 (pg/ml)</b>	SI (n=5)	585,7	84,08	501,6	[(-978)-1981]	0,40	0,849
	NO (n=11)	429	422,8	6,1	[(-217)-229]	0,953	
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	SI (n=5)	285	132,7	152,6	[(-69,7)-375]	0,129	0,355
	NO (n=11)	174,8	160,6	14,2	[(-42)-70,5]	0,587	
<b>IL10/ TNF-<math>\alpha</math></b>	SI (n=5)	0,008	0,112	-0,1	[(-0,37)-0,16]	0,343	0,242
	NO (n=11)	0,52	0,17	0,35	[(-0,45)-1,1]	0,352	

**Tabla 46.-** Diferencias entre los parámetros de inflamación a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Comparación de grupos (24 y 48 horas), con la diferencia de las medias y su p-valor. Análisis mediante Prueba t de Student para datos relacionados. Comparación entre los sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Análisis mediante Prueba t de Student para datos independientes. Nivel de significación  $p < 0,05$ .

Respecto a los marcadores de estrés oxidativo, observamos un ascenso de la actividad de XO a las 48 horas de ingreso y una escasa modificación para el MDA, y sin llegar a alcanzar significación estadística la diferencia de las medias. Tampoco existe significación estadística al comparar los pacientes con TDRC y los que no (Tabla 47).

	TDRC	Media T1	Media T2	Dif medias	IC 95% de la dif	p-valor dif	p-valor
<b>XO (mU/ml)</b>	SI (n=5)	4,0	8,7	-4,67	[(-12)-2,5]	0,145	0,483
	NO (n=10)	3,8	5,4	-1,67	[(-13)-65]	0,281	
<b>MDA (nM/ml)</b>	SI (n=2)	2,91	2,06	0,85	[(-7)-8,7]	0,401	0,646
	NO (n=7)	3,2	3,8	-0,64	[(-2)-0,65]	0,265	
<b>GSSG/GSH</b>	SI (n=1)	0,53	0,53	-	-	-	-
	NO (n=3)	1,78	1,56	0,22	[(-4,2)-4,6]	0,85	
<b>GSSG</b>	SI (n=5)	73,7	76	-2,2	[(-37,1)-32,7]	0,870	0,113
	NO (n=11)	116,7	84,5	32,24	[(-30,1)-94,6]	0,276	
<b>GSH</b>	SI (n=0)	-	-	-	-	-	-
	NO (n=3)	0,22	0,07	0,14	[(-0,39)-0,67]	0,369	

**Tabla 47.-** Diferencias entre los parámetros de estrés oxidativo a las 48 horas en pacientes sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Comparación de grupos (24 y 48 horas), con la diferencia de las medias y su p-valor. Análisis mediante Prueba t de Student para datos relacionados. Comparación entre los sometidos a TDRC y los que no precisaron TDRC. Análisis mediante Prueba t de Student para datos independientes. Nivel de significación  $p < 0,05$ .

### M.3.- ANÁLISIS DE MORTALIDAD EN PACIENTES SOMETIDOS A TDRC

	Viven	Fallecen
<b>TDRC (N=8)</b>	3 (37,5%)	5 (62,5%)
<b>NO TDRC (N=15)</b>	9 (69,23%)	4 (30,77%)

**Tabla 48.-** Análisis de mortalidad en pacientes sépticos sometidos a TDRC. Análisis mediante el Test de chi-cuadrado con nivel de significación  $p < 0,05$ .

Estudiamos la mortalidad de los pacientes sometidos a TDRC mediante el

análisis de tablas personalizadas, obteniendo un p-valor de 0,664, lo que indica que las variables mortalidad y TDRC son independientes (Tabla 48).

#### N) ANÁLISIS DE LOS VALORES PERDIDOS

Se realizó un análisis de valores perdidos por el método de regresión de acuerdo con las variables mortalidad y TDRC que se muestran en la tabla 49 y 50 para las variables de coagulación estudiadas, en la tabla 51 y 52 para marcadores de inflamación y en la 53 y 54 para los marcadores de estrés oxidativo.

Ante los datos, las pérdidas posiblemente tendrían características similares en cuanto a la variable analizada.

	PC (n=21)	PS (n=21)	Fac II (n=19)	Fac VII (n=20)	Fac VIII (n=21)	Fac XII (n=21)	AT III (n=23)	HCY (n=21)
<b>Valor real</b>	32	56,4	46	53	73,2	30,8	55,3	11
<b>Valor estimado</b>	32,4	54,68	46,7	51,6	72,5	30,5	55,3	11

*Tabla 49 .- Resumen de medias estimadas de los parámetros de coagulación en relación a la mortalidad. Análisis de valores perdidos por el método de regresión.*

	PC (n=16)	PS (n=16)	Fac II (n=16)	Fac VII (n=16)	Fac VIII (n=16)	Fac XII (n=16)	AT III (n=18)	HCY (n=16)
<b>Valor real</b>	36,3	64	45,2	51,8	78,2	30,6	52	14,8
<b>Valor estimado</b>	36,3	62,7	43,6	49,7	76,6	31,8	52,3	14,8

*Tabla 50.- Resumen de medias estimadas de los parámetros de coagulación en relación a las TDRC. Análisis de valores perdidos por el método de regresión.*

## Resultados

	IL-10 (n=22)	IL-6 (n=22)	IL-8 (n=22)	TNF- $\alpha$ (n=22)	IL10/TNF- $\alpha$ (n=22)
<b>Valor real</b>	121,3	2298	529	249	0,41
<b>Valor estimado</b>	132	2226	520	246	0,40

*Tabla 51.- Resumen de medias estimadas de los parámetros de inflamación en relación a la mortalidad. Análisis de valores perdidos por el método de regresión.*

	IL-10 (n=16)	IL-6 (n=17)	IL-8 (n=17)	TNF- $\alpha$ (n=17)	IL10/TNF- $\alpha$ (n=17)
<b>Valor real</b>	15,8	1361	300	155,3	0,14
<b>Valor estimado</b>	14,2	1499	276	155,3	0,10

*Tabla 52.- Resumen de medias estimadas de los parámetros de inflamación en relación a las TDRC. Análisis de valores perdidos por el método de regresión.*

	MDA (n=9)	XO (n=18)	GSSG/GSH (n=5)
<b>Valor real</b>	3,15	3,85	1,55
<b>Valor estimado</b>	3,37	3,73	1,6

*Tabla 53.- Resumen de medias estimadas de las variables de estrés oxidativo en relación a la mortalidad. Análisis de valores perdidos por el método de regresión.*

	MDA (n=9)	XO (n=18)	GSSG/GSH (n=5)
<b>Valor real</b>	3,46	6,37	1,3
<b>Valor estimado</b>	3,56	4,78	1,3

*Tabla 54.- Resumen de medias estimadas de los parámetros estrés oxidativo en relación a las TDRC. Análisis de valores perdidos por el método de regresión.*



## **5. DISCUSIÓN**



## **1.- RELEVANCIA DE LOS MARCADORES DE GRAVEDAD Y PRONÓSTICO EN LA SEPSIS:**

La sepsis grave es una entidad frecuente, con una incidencia de entre 50 y 100 nuevos casos por 100000 habitantes y año. A pesar de los avances en el tratamiento antibiótico, el mayor conocimiento de la fisiopatología y las medidas para modular la respuesta inflamatoria con las diferentes líneas terapéuticas, la mortalidad continúa siendo elevada, alcanzando más del 40% en las formas de sepsis grave o shock séptico y su incidencia va en aumento.

Existe en la actualidad suficiente evidencia para afirmar que la aplicación precoz y dirigida de una serie de medidas diagnóstico-terapéuticas, entre las que se incluyen el tratamiento antibiótico, el soporte hemodinámico adecuado y el control del foco infeccioso, mejoran de manera significativa la supervivencia. Pero en la mayor parte de las ocasiones el diagnóstico no se obtiene de forma precoz, sino cuando el daño celular y orgánico ya está establecido y la gravedad de esta entidad es patente.

Se han propuesto numerosas moléculas circulantes o asociadas a células como marcadores útiles de la presencia, gravedad o curso clínico de la sepsis, basándose su prevalencia en cohortes de pacientes con el síndrome clínico o su asociación con un resultado clínico adverso. Ninguna ha demostrado una utilidad clínica orientando la decisión terapéutica o definiendo la población óptima de estudios en ensayos clínicos. Un marcador de sepsis debe servirnos para identificar qué pacientes tienen el proceso fisiopatológico, para predecir la supervivencia y debe guiar el tratamiento identificando los pacientes con el proceso fisiopatológico y revelar como están respondiendo al tratamiento.

Centrándonos en nuestros resultados, hemos encontrado diferencias significativas entre los valores de los diferentes marcadores de inflamación, de



coagulación y de estrés oxidativo cuando se han comparado casos y controles, que era nuestro primer objetivo.

En cuanto al segundo objetivo que hace referencia al desenlace final, a excepción de los niveles de GSH a las 24 horas, donde observamos una clara diferencia entre los supervivientes y los no supervivientes, ninguno de otros marcadores analizados en ese tiempo mostró por sí sólo ser un predictor de mortalidad, aunque los valores absolutos diferían entre los pacientes que sobrevivían y los que no.

La valoración por los *scores* de gravedad SAPS 3 y APACHE II y la disfunción de órgano medida por el SOFA *score* tampoco mostró diferencias significativas entre ambos grupos. Esto podría ser explicado porque todos los pacientes en el momento de inclusión en el estudio presentaban características muy similares, precisaban intubación orotraqueal y conexión a ventilación mecánica, soporte vasoactivo y disfunción renal. Al relacionar los *scores* de gravedad comentados anteriormente con los parámetros estudiados, únicamente los niveles de IL-8 al ingreso parecieron relacionarse con la gravedad valorada por el APACHE II y los niveles basales de ATIII y del cociente IL-10/TNF $\alpha$  con la escala SOFA.

En relación con el tercer objetivo, que valoraba la evolución de los marcadores en el tiempo y su relación con el desenlace final en términos de supervivencia, se observó que únicamente la recuperación de los niveles de proteína C, proteína S, AT III y los factores de coagulación II y VII parecen relacionarse con un resultado final favorable. En el caso de las citoquinas, únicamente la progresiva normalización de los niveles de IL-6 se asociaban con una mejora en el resultado final. Entre los marcadores de estrés oxidativo, una disminución en los niveles de MDA junto con un aumento en los niveles de XO al tercer día se relacionaron con mayor supervivencia. De igual modo un descenso progresivo en los niveles de GSH se asociaba a mayor mortalidad, al igual que un

ascenso en los niveles de GSSG a las 72 horas, y por el contrario, una progresiva normalización de la relación glutatión oxidado/glutatión reducido parecía relacionarse con una mayor supervivencia.

Otro de los objetivos planteados en el estudio fue valorar la relación existente entre los diferentes marcadores estudiados y los parámetros que valoran la situación clínica, entre ellos la función cardiaca, encontrando una asociación entre todas las citoquinas proinflamatorias y la disfunción miocárdica observada en la sepsis, al igual que parece existir una relación de los niveles de MDA y XO con la hipocontractilidad cardiaca. La disfunción renal parece asociarse con los niveles basales de IL-8 y XO en el grupo de pacientes enfermos. Observamos también una relación también entre los niveles de todas las citoquinas estudiadas con los niveles de lactato, como marcador de perfusión tisular. Los niveles basales de XO, por el contrario, se relacionaron con el valor de la SvO<sub>2</sub>.

Al analizar la relación existente entre los diferentes marcadores, el quinto de los objetivos, observamos una relación de determinadas citoquinas con la PC y el factor VII, sugestivo ello de una interrelación entre inflamación y coagulación. La HCY por su parte se relacionaba con los niveles basales de factores de coagulación VII y VIII, lo que sugiere que niveles discretamente elevados de HCY pueden producir activación de la coagulación.

El último objetivo planteado, fue valorar la influencia de las TDRC en los niveles de los diferentes marcadores. El uso de la terapia renal continua, se asoció a cambios en los niveles de citoquinas tanto proinflamatorias como antiinflamatorias durante las primeras 48 horas, y diferencias en los niveles del factor VIII y XII en aquellos pacientes sometidos a TDRC en comparación con los que no, lo que podría indicar una activación de la cascada de la coagulación y un consumo de dichos factores al pasar la sangre por el circuito extracorpóreo. En contra de lo esperado no pudimos encontrar un mayor grado de EO en los pacientes con fracaso renal y sometidos a TDRC.

## **2.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO:**

Nuestro estudio se vio limitado en la inclusión de pacientes, dado que seleccionar a pacientes con sepsis grave y shock séptico intubados y conectados a ventilación mecánica limitó la rapidez de inclusión y el número de pacientes en el estudio. En el momento del planteamiento del estudio se consideró la ventilación mecánica como un criterio de inclusión, ya que suponía una gravedad mayor de los pacientes incluidos, así como una mejor valoración de la situación hemodinámica en términos de precarga y respuesta a volumen. En el momento actual, el manejo en nuestra unidad de pacientes con sepsis grave y shock séptico con disfunción respiratoria se realiza en muchas ocasiones con ventilación mecánica no invasiva, y estos pacientes no fueron incluidos en el estudio.

## **3.- MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN LA SEPSIS:**

Las citoquinas forman parte del sistema de modulación de las respuestas inflamatorias y antiinflamatorias, regulando así la respuesta del huésped a la sepsis.

Los niveles de citoquinas que hemos evaluado siguen una evolución individual muy variable, lo que podría reflejar la heterogeneidad de la respuesta del huésped a la infección, la inclusión de los pacientes en distintas horas desde el inicio del shock y las diferencias en la severidad de la enfermedad posiblemente dependiendo de su etiología.

El TNF- $\alpha$  es considerada la primera citoquina que se libera y pone en marcha la respuesta inflamatoria. Su secreción en grandes cantidades se produce en pocos minutos alcanzando un pico máximo entre hora y media y dos horas, y dicha elevación depende tanto de la gravedad como del tipo de proceso séptico. Diferentes estudios han demostrado niveles de TNF- $\alpha$  elevados en pacientes

sépticos en comparación con sujetos sanos, observando además una asociación entre los niveles de TNF- $\alpha$  y el desenlace final de los pacientes<sup>14, 15, 18</sup>. En el presente estudio encontramos en el grupo de enfermos niveles de TNF- $\alpha$  al ingreso próximos a 200 pg/ml, aunque estos valores iniciales no permitieron identificar aquellos pacientes con peor pronóstico. No obstante, niveles que a las 48 horas se mantienen en el tiempo o incluso que se elevan corresponden a pacientes que fallecen. Algo similar ha sido considerado en estudios previos, los cuales valoran la hipótesis de la inflamación intravascular mantenida, caracterizada por una continua elevación de las citoquinas inflamatorias dentro de la circulación, siendo esta elevación y no los niveles iniciales tras la agresión los que determinan qué pacientes con shock séptico desarrollaran DMO<sup>14-16</sup>. De acuerdo a esto, los pacientes que producen gran cantidad de citoquinas o no pueden aclararlas de la circulación, tienen más riesgo de desarrollar FMO y mayor riesgo de muerte, como describe De Werra I y cols<sup>15</sup>, cuyos resultados son similares a los nuestros. Sin embargo, en nuestro caso no hemos obtenido, una relación con la supervivencia, lo que se justificaría por el pequeño número de pacientes, la presencia de receptores solubles circulantes, que prolongan la vida media del TNF- $\alpha$  durante 2,5-6 horas<sup>16</sup>, el momento de la determinación plasmática inicial de TNF, dada su relativa vida media corta y las determinaciones cada 24 horas, en las que no se han llegado a detectar las elevaciones transitorias que presenta el TNF- $\alpha$ , como se demuestra en el estudio de Dougnac A y cols<sup>132</sup>.

La IL-6 liberada tras el estímulo del TNF- $\alpha$  y la IL-1, persiste en plasma mucho más tiempo que el resto de citoquinas proinflamatorias. Sus concentraciones séricas son variables, pero se encuentran de forma significativa más elevadas en pacientes con cuadros de mayor gravedad y en aquellos pacientes que posteriormente fallecen<sup>14, 20, 22</sup>. Nuestros resultados son acordes a lo descrito, la mayor parte de los pacientes incluidos en el grupo de enfermos presentaban valores muy superiores al rango de la normalidad [1428 pg/ml (700-5000)] comparado con

el grupo control [50,2 pg/ml (11-582)]. Sin embargo, aunque las medias de los valores de IL-6 en los pacientes que fallecían duplicaban a las medias de los que no fallecían, las diferencias no fueron significativas. Los valores de IL-6 durante la evolución de la enfermedad observados en nuestro estudio se aproximan a los descritos por otros autores que consideraron como parámetro más discriminativo para predecir la mortalidad asociada a la sepsis niveles de IL-6 al ingreso superiores a 1000 pg/ml<sup>17</sup> y una elevación mantenida en el tiempo como un marcador pronóstico considerándola de más valor que sus niveles iniciales en términos de resultado final<sup>23</sup>.

Al analizar el subgrupo de pacientes quirúrgicos, obtenemos resultados similares, con una elevación mantenida de los niveles de IL-6 en los pacientes que fallecían. Aunque sin llegar a ser significativo este resultado, se aproxima bastante a los resultados obtenidos por otros autores y comentados anteriormente.

La IL-8 regula la respuesta inflamatoria aguda. Es rápidamente sintetizada en las zonas de inflamación local donde reclutará y activará las células inflamatorias. Tiene una vida media larga en las zonas de inflamación aguda, por lo que puede ser detectada durante varios días en aquellas situaciones donde continúa el reclutamiento de células inflamatorias para combatir la infección bacteriana, como la neumonía o peritonitis<sup>133</sup>. En nuestro estudio los niveles de IL-8 se encontraban elevados en los pacientes con sepsis en el momento de su ingreso comparado con el grupo control [214,7 (49,5-1090) vs 1 (1-30,62)  $p > 0.001$ ] como describió Hack y cols<sup>134</sup> y estos niveles llegan a ser muy elevados a las 48 horas en aquellos pacientes que fallecen, y aunque descienden progresivamente no llegan a igualar los niveles de los pacientes que sobreviven. Esta elevación se ha considerado por algunos autores como uno de los mejores biomarcadores pronósticos<sup>30</sup> y un *score* junto con otras citoquinas pro y anti-inflamatorias como predictoras de mortalidad en la sepsis grave. Sin embargo, en nuestra serie no encontramos el mismo resultado, ya que los niveles de IL-8 no predijeron la

mortalidad con una significación estadística, al igual que el estudio de De Pablo R y cols<sup>31</sup> que atribuye esta discrepancia a la mayor gravedad de los enfermos, con mayor puntuación APACHE II y todos con shock, características bastante similares a las de nuestros pacientes.

Dentro de las citoquinas anti-inflamatorias, estudiamos la IL-10, una de las mejores caracterizadas. Diversos estudios clínicos han demostrado que los agentes anti-inflamatorios, entre ellos la IL-10, son producidos incluso en cantidades mayores durante la sepsis que los agentes proinflamatorios<sup>27</sup>. En nuestra serie no encontramos diferencias significativas con los niveles de IL-10 en pacientes sépticos al comparar con sujetos sanos, ni tampoco ninguna correlación con sus niveles basales y la mortalidad. Sin embargo, los niveles de IL-10 en aquellos pacientes que fallecen permanecen elevados en todo momento de su evolución, y un aumento del cociente IL-10/TNF- $\alpha$  en el momento de ingreso se asociaba a mayor mortalidad, lo que indica que el predominio del perfil antiinflamatorio se asocia a un desenlace final fatal<sup>27</sup>.

Valoramos las distintas citoquinas estudiadas y su relación con la severidad de la enfermedad valorada por el APACHE II y el número de órganos disfuncionales valorados por la escala SOFA. Observamos una buena correlación de los niveles de IL-8 al ingreso y el APACHE II (p 0,078) en el momento de ingreso. Estos resultados son concordantes con los descritos en estudios previos<sup>15, 18</sup> que apoyan la hipótesis de que la actividad proinflamatoria excesiva sería uno de los mecanismos fisiopatológicos responsables de la DMO en estos pacientes y en los pacientes críticos<sup>132</sup>, aunque únicamente se observó correlación para la IL-8 y no para la IL-6. También encontramos una correlación con la IL-10/ TNF- $\alpha$  y el SOFA al ingreso (p 0,06), lo que sugiere que el predominio de un perfil antiinflamatorio se asocia a mayor disfunción orgánica<sup>27</sup>. En esta línea, y al igual que los resultados obtenidos por De Pablo y cols<sup>31</sup> los niveles séricos de IL-8 al

ingreso eran superiores en pacientes que desarrollaron fracaso renal agudo comparado con los que no lo desarrollaron.

En la actualidad se considera que las citoquinas proinflamatorias y el TNF- $\alpha$  están implicadas en la disfunción miocárdica asociada a la sepsis, a través de mecanismos de generación de óxido nítrico, cuyo exceso produce una vasodilatación e hipotensión arterial sistémica, así como incrementos de la relajación miocárdica diastólica. Valoramos la correlación de estos marcadores con la fracción de eyección global (GEF) y la contractilidad del ventrículo izquierdo indexada (dPmx) como parámetros de estimación de la contractilidad miocárdica obtenidos mediante el sistema de monitorización hemodinámica PiCCO. Encontramos una correlación negativa de todos ellos con el GEF, aunque sólo para la IL-6, la IL-8 y el TNF- $\alpha$  alcanzaba una significación estadística. Diversos estudios han valorado el papel de las citoquinas en la afectación miocárdica de pacientes sépticos<sup>103, 105</sup>, mostrando al igual que nuestros resultados una disminución de la capacidad contráctil del miocardio, aunque en ninguno se correlaciona con parámetros obtenidos mediante sistemas de monitorización. La falta de significación encontrada podría ser explicado por el pequeño tamaño muestral y la imposibilidad de obtener resultados en las determinaciones de todas las citoquinas por problemas técnicos, pero el hecho de obtener en nuestros pacientes parámetros de contractilidad disminuidos, junto con una elevación considerable de las citoquinas, apoya la consideración de las interleuquinas y el TNF como sustancias depresoras del miocardio. Se constató también una correlación negativa de los niveles de IL-8, IL-6 y TNF- $\alpha$  con el índice cardiaco, los más estudiados en este sentido<sup>103</sup>.

En referencia al último objetivo, se correlacionaron todos los parámetros comentados con otros marcadores de infección. Se encontró una buena correlación de IL-6 y 8 con la procalcitonina ( $r=0,499$ ,  $p 0,018$  y  $r= 0,551$ ,  $p 0,008$ ), como ya describió el grupo de Harbarth y col<sup>17</sup>. No hubo por el contrario ninguna

correlación con los niveles de PCR, a pesar del hecho que la IL-6 estimula su síntesis a nivel del hepatocito. La correlación también fue buena para los cuatro marcadores de la inflamación y los niveles de lactato, como describen otros autores<sup>19, 133</sup>, lo que apoyaría la idea de que el aumento de la actividad inflamatoria se asocia con una afectación a nivel de la microcirculación y de la perfusión tisular.

#### **4.- MARCADORES DE COAGULACIÓN EN LA SEPSIS:**

Tras la agresión por un agente infeccioso, se produce una activación masiva y descontrolada de la coagulación, la cual es mediada y amplificada por la liberación de mediadores durante la respuesta inflamatoria, y que a su vez, provocan un deterioro de las vías de anticoagulación fisiológicas a través de un descenso de los tres anticoagulantes naturales (AT III, PC y TFPI) y un retraso en la eliminación de fibrina como consecuencia de la fibrinólisis ineficaz. El resultado de esto va a ser una formación excesiva de fibrina intravascular y la consecuente oclusión trombótica de pequeños y medianos vasos, comprometiendo la perfusión sanguínea a diversos órganos, con deterioro hemodinámico y metabólico que aboca al fallo multiorgánico<sup>1, 135</sup>, máxima expresión de la alteración de la coagulación en la sepsis y que se conoce como coagulación intravascular diseminada. Se ha considerado la CID como un predictor independiente de mortalidad en pacientes con sepsis grave<sup>59</sup>. Aunque en nuestra serie un elevado porcentaje de pacientes cumplía criterios de CID declarada, un 34,6%, no pudimos establecer una relación con la mortalidad. No obstante, al igual que otros autores encontramos niveles de factores de coagulación inferiores, concentraciones elevadas de DD y disminución de la proteína C, indicando una activación de la coagulación<sup>56</sup>.

Nuestros resultados muestran un gran deterioro hemostático en pacientes con sepsis, caracterizado por una masiva activación de la coagulación, en comparación con el grupo control. Observamos que los pacientes enfermos



presentan niveles disminuidos de factores de coagulación, excepto el factor VIII, niveles anormalmente bajos de anticoagulantes naturales: proteína C, proteína S y AT III, y una elevación de los niveles de Dímero-D y productos de degradación del fibrinógeno.

En la activación de la coagulación tanto la vía intrínseca como la vía extrínseca están implicadas y, aunque los estudios más recientes consideran que es primariamente extrínseca<sup>57,136</sup>, en nuestra serie encontramos tanto niveles bajos de factor VII como de factor XII al comparar con el grupo control. Esto se traduce a nivel de laboratorio en una prolongación de los tiempos coagulación, tanto el TP como TTPA. Esta disminución de los factores se debe fundamentalmente a un aumento del consumo, pero también a una pérdida masiva o empeoramiento de la síntesis debido a la insuficiencia hepática que presentan gran parte de los pacientes sépticos<sup>59</sup>. Aunque los valores iniciales de estos factores no permiten identificar aquellos que van a fallecer, sí que pudimos observar que niveles disminuidos en el tiempo se asociaban a peor pronóstico, sobre todo para el factor VII, como indicador de la activación de la vía extrínseca y por tanto una actividad inflamatoria mayor y mantenida y para el factor II, activado en la superficie de las plaquetas activadas provocando fenómenos trombóticos locales.

Encontramos en nuestra serie una disminución de los anticoagulantes naturales, tanto de la PC como de su co-factor la proteína S y de la ATIII, al comparar el grupo de enfermos con el grupo control, indicativos del consumo de los inhibidores de la coagulación durante la sepsis, al igual que indican publicaciones anteriores<sup>137</sup>.

Los niveles basales de PC al ingreso han mostrado una correlación inversa con la mortalidad en los diferentes estudios publicados<sup>56, 57, 68, 138</sup>, al igual que niveles persistentemente disminuidos después del primer día de evolución se considera un factor independiente de mortalidad<sup>69</sup>. Nuestros resultados coinciden con lo publicado, así los pacientes que fallecían mostraron niveles menores de PC

en el momento del ingreso, aunque no hubieron diferencias significativas al comparar con los que sobrevivían. Sin embargo, medidas seriadas de PC en los días posteriores al ingreso mostraron diferencias entre ambos grupos y, sólo los pacientes que sobrevivían mostraban una progresiva normalización de los niveles de PC. Estos datos apoyan la idea que medidas seriadas de PC proporcionan mayor valor diagnóstico que una única determinación. Estos niveles disminuidos de PC en el momento del diagnóstico de la sepsis pueden encontrarse incluso cuando los niveles de TP, TTPA, plaquetas y fibrinógeno son normales, considerándolo una coagulopatía de consumo silente<sup>139</sup> y hace pensar que la medición de PC podría añadir valor diagnóstico al panel de marcadores de CID.

En nuestra serie los niveles de AT III en el momento del ingreso no fueron inferiores entre los pacientes que fallecían, aunque casi un 85% presentaron valores en el límite inferior de la normalidad. Por el contrario, y al igual que ocurre con la PC, medidas seriadas sí muestran una elevación progresiva hacia niveles normales en aquellos pacientes que sobreviven. Todo ello, indicaría que los pacientes que no sobreviven presentan una activación de la coagulación más marcada que aquellos que sobreviven, al igual que ocurre con estudios previos con pacientes sépticos de características similares a los nuestros<sup>64, 68</sup>.

La disminución de los niveles de PC y AT III al ingreso se han relacionado con mayor disfunción orgánica en diferentes estudios<sup>69</sup>. Nosotros encontramos una correlación positiva para la AT III y el fallo orgánico valorado por la escala SOFA, sin poder establecer ninguna relación de la PC con dicho score.

La incidencia de trombopenia (plaquetas  $< 150 \times 10^9$ ) en pacientes críticos se sitúa en torno al 35-44% y esta disminución puede indicar que la activación de la coagulación está en curso y va a contribuir a la disfunción vascular y de órganos. En nuestra serie, la trombopenia está presente en el 50% de los enfermos sépticos, porcentaje que no nos permite establecer diferencias entre casos y controles. La presencia de trombopenia se asocia a un aumento de la mortalidad en diferentes

estudios<sup>59</sup> y, si las cifras de plaquetas se mantienen disminuidas durante la estancia en UCI o se produce una disminución de sus cifras cercana al 50%, la mortalidad es mayor, algo que también describimos en nuestro estudio.

Al estudiar la función plaquetaria mediante el PFA 100, se observan diferencias significativas entre casos y controles con el colágeno ADP pero no con el colágeno EPI, aunque los valores de éste último están por encima del límite normal. Los límites normales del tiempo de cerrado registrados son 52-153 seg para el cartucho con col/ADP y de 84 a 198 segundos para col/EPI. El PFA-100 valora la función plaquetaria proporcionando una medida cuantitativa de adhesión y agregación analizando patrones de respuesta frente a agonistas plaquetarios como el ADP, la epinefrina, el colágeno, el ácido araquidónico y la ristocetina. Ofrece como ventajas que utiliza sangre total citratada y es rápido de realizar utilizando unos cartuchos. El tiempo de cierre se afecta por el número de plaquetas, el hematocrito, vWF, receptores de plaquetas GPIb y GPIIb/IIIa y el ritmo diurno. Cuando las plaquetas son  $< 50 \times 10^9 /L$  o el hematocrito  $< 25\%$ , el tiempo de cierre se prolonga<sup>140</sup>. Aunque no se puede utilizar como diagnóstico de defectos específicos de función plaquetaria, son sensible para detectar disfunciones severas del receptor de membrana plaquetaria<sup>141, 142</sup>.

Diversos estudios publicados muestran una disminución de la agregación plaquetaria inducida en pacientes sépticos al compararlo con controles, al igual que los datos obtenidos en nuestra serie, y esta agregación también difiere en función de las cifras de plaquetas<sup>143, 144</sup>. Por el contrario, se observa una agregación plaquetaria espontánea que sería responsable de parte de las alteraciones a nivel de la microcirculación<sup>144</sup>. Cabe destacar que ninguno de los estudios anteriormente citados utilizó el PFA-100 como método de análisis por lo que únicamente podemos considerar la presencia de una afectación en la función plaquetaria en nuestros pacientes. Tampoco encontramos diferencias significativas entre los pacientes que fallecen y los que sobreviven, al igual que los datos obtenidos por

Woth y col<sup>144</sup>. Por tanto, de momento y, dado el tamaño muestral de nuestra serie, no podemos recomendar este test como un predictor de mortalidad.

#### **5.- MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN LA SEPSIS:**

La respuesta inflamatoria conlleva a una situación de estrés tisular, dificultando un adecuado metabolismo oxidativo intracelular. Existen diferentes enzimas y moléculas antioxidantes con capacidad para inhibir las especies reactivas del oxígeno (ERO), como son la CAT, SOD y el sistema de glutatión. En la sepsis, la excesiva generación de radicales libres (RL) supone una saturación de los mecanismos de protección antioxidante y como consecuencia la aparición del estrés oxidativo. Pacientes con sepsis muestran un aumento en la peroxidación lipídica, con un aumento en los niveles de MDA y un aumento en la actividad de la XO, acompañado de una disminución del tripéptido GSH, siendo el cociente glutatión disulfuro (oxidado) /glutatión reducido (GSSG/GSH) un marcador del grado de estrés oxidativo existente, responsable en parte del daño tisular producido durante la respuesta inflamatoria sistémica.

Diferentes autores han mostrado un aumento del daño oxidativo sobre lípidos o proteínas y una disminución de la capacidad antioxidante en pacientes sépticos al compararlos con sujetos sanos<sup>43, 44, 45</sup>, lo que es indicativo de una alteración en el equilibrio redox en estos pacientes. Los mismos autores observaron que pacientes con mayor gravedad valorada por escalas como el SOFA *score* o el APACHE, presentaban mayor daño oxidativo.

En este estudio se ha valorado el MDA como indicador de daño oxidativo de lípidos, que afecta principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, la XO como enzima prooxidante y los niveles de glutatión en su forma oxidada y reducida, así como el cociente GSSG/GSH, para valorar el estado redox intracelular como índice de estrés oxidativo.

A diferencia de los estudios comentados anteriormente<sup>43-45</sup>, no encontramos en nuestra serie diferencias en la actividad XO entre los pacientes control y el grupo de casos. Esto puede deberse a las características de los pacientes incluidos en el grupo control, pacientes que estaban en estudio por anemia y pacientes diagnosticados de un síndrome mielodisplásico. Recientes estudios<sup>145-147</sup> han demostrado un aumento del estrés oxidativo en pacientes hematológicos que han recibido tratamiento con hierro, tanto vía oral como en forma de transfusiones, un hecho que no tuvimos en consideración en el momento de planteamiento de los objetivos, ya que los datos más recientes<sup>145</sup> son posteriores al planteamiento del estudio. Las interacciones del hierro con los radicales libres son complejas y los mecanismos implicados siguen siendo objeto de estudio. Por este motivo, diversos autores han centrado sus investigaciones en intentar explicar por qué el exceso de hierro provoca la acumulación de hierro plasmático lábil, la forma de hierro no unida a la transferrina, el cual tiene propiedades redox, facilitando así la formación de EROS. Este aumento de EROS junto con el subsiguiente descenso asociado en antioxidantes, causaría en último lugar la oxidación de lípidos, proteínas y ADN.

La actividad de la XO en el momento del ingreso fue similar entre aquellos pacientes que fallecían y los que sobrevivían, por lo que estos valores iniciales no nos han permitido discriminar aquellos pacientes que van a presentar un desenlace fatal. Estos resultados difieren en parte de los publicados anteriormente, que consideraban que niveles de XO superiores en el momento del ingreso se asociaban con mayor supervivencia<sup>42, 43, 47</sup>. Este hecho podría ser justificado, además de por el tamaño muestral, por la gravedad que presentaban nuestros pacientes en el momento de inclusión en el estudio, todos ellos con disfunción multiorgánica establecida y con un nivel de gravedad semejante (APACHE II de 19 y un SOFA score de 11), lo que hace suponer que todos ellos presentan un fracaso en el control de la microcirculación, con una hipoperfusión e isquemia asociada. Esto está a su

vez se ve apoyado por la correlación observada en nuestro estudio entre la actividad XO y los valores de SvO<sub>2</sub>, como reflejo de la perfusión global de todo el organismo y el equilibrio entre la demanda, aporte y extracción de oxígeno por los tejidos. No obstante, a diferencia de otros autores no pudimos demostrar una relación entre la actividad XO y los niveles de lactato entre los pacientes más graves<sup>47</sup>.

Durante la reperfusión, el oxígeno llega a los tejidos y puede desarrollarse una rápida oxidación de purinas, que generará uratos y O<sub>2</sub>; estos últimos pueden generar de forma secundaria otras ERO altamente tóxicas. Estos ERO potenciarían la respuesta inflamatoria en tejidos y órganos, con un número incrementado de plaquetas activadas y neutrófilos adheridos al endotelio, favoreciendo la formación de trombos y el vasoespasmo y llevando a más isquemia y lesión tisular<sup>36, 148</sup>.

El aumento del ácido úrico generado por la acción de la XO, podría ejercer en este punto un feed back negativo sobre la propia enzima, como han mostrado algunos autores<sup>149, 150</sup>.

Los niveles de MDA han sido utilizados como un biomarcador de peroxidación lipídica desde hace más de 30 años, aunque únicamente pequeñas series han valorado este marcador en los pacientes sépticos. Nosotros hemos observado que los pacientes con shock séptico presentaban niveles de MDA más elevados que los sujetos sanos, al igual que describen otros autores<sup>45, 46</sup>. Por el contrario, a diferencia de otras publicaciones no observamos una asociación entre los niveles iniciales de MDA y la mortalidad<sup>45, 48</sup>. Los pacientes que sobreviven presentan valores superiores de MDA a su ingreso respecto a los que fallecen, hecho que no podemos justificar. Durante el seguimiento de los enfermos encontramos mayor lipoperoxidación a las 72 horas en los pacientes que fallecen respecto al ingreso, al igual que el estudio de Andresen y col<sup>151</sup>; y, a diferencia del reciente estudio publicado por Lorente et al<sup>152</sup> donde los niveles persistentemente elevados a lo largo de la primera semana de evolución se asociaban a una mayor

severidad de la sepsis y una mayor mortalidad. Cabe destacar que en este último los niveles de MDA eran determinados en suero y no en plasma, como en nuestra serie y en la publicada por Andersen y col. Considerando el fenómeno de reperfusión que se produce tras la isquemia, la XO utiliza el oxígeno molecular produciendo peróxido de hidrógeno y el radical superóxido, favoreciendo la lipoperoxidación y con ello el aumento de los niveles de MDA. No se han encontrado datos en la literatura que relacionen ambos fenómenos por lo que no podemos establecer una relación entre XO y MDA. Otro aspecto a considerar y que no se ha llevado a cabo en nuestra serie, sería la compartimentalización que plantean algunos autores<sup>153</sup> según el tipo de fallo de órganos o según el microorganismo causante de la infección, para explicar las diferencias encontradas en la evolución de los niveles de MDA.

Entre las defensas antioxidantes endógenas, el sistema glutatión (GSH) es cuantitativamente el más importante. La información sobre las concentraciones de glutatión en sepsis de humanos es relativamente limitada, aun así, se ha demostrado que los pacientes críticos presentan valores de GSH en sangre disminuidos<sup>154</sup>, aunque en gran parte de ellos la determinación de GSH se ha realizado a nivel eritrocitario<sup>151</sup>. En nuestra serie encontramos resultados similares a los descritos, con unos niveles de GSH en sangre disminuidos en el grupo a estudio en el momento de ingreso, y observando además que el descenso de estos niveles en el tiempo se acompañaba de un aumento de la mortalidad. Debe destacarse además que, los niveles de glutatión en su forma oxidada fueron superiores en los pacientes sépticos respecto a los controles y su progresivo ascenso se asoció a mayor mortalidad. Concentraciones bajas de GSH y un aumento en el cociente GSSG/GSH ha sido descrito en múltiples patologías, entre las que se encuentra la patología inflamatoria pulmonar y dentro de ella el distrés respiratorio. Esta elevación en el cociente ha sido atribuida más a unos niveles muy bajos de GSH, que a un aumento en los niveles de GSSG, lo que sugiere que la

monitorización de los niveles de GSH podría ser utilizado para monitorizar la severidad y progresión de la enfermedad<sup>155</sup>. Resultados similares han sido encontrados en nuestro estudio, donde encontramos un aumento en el cociente GSSG/GSH, fundamentalmente por muy bajos niveles de GSH. Este hecho es más patente al comparar aquellos pacientes que sobreviven con los que no sobreviven, en los que encontramos diferencias en el cociente glutatión oxidado/glutatión reducido a lo largo de la evolución del proceso, y estas diferencias se reflejan en un descenso significativo en los niveles de GSH en el grupo de pacientes con peor pronóstico. Aunque el cociente GSSG/GSH a lo largo del tiempo de evolución presenta un patrón similar en ambos grupos durante las primeras 48 horas, aquellos pacientes que presentaron un resultado final favorable muestran un descenso lento pero progresivo, mientras que se presenta un ascenso a las 72 horas en aquellos que fallecen, similar a los resultados publicados<sup>156</sup>.

Los RL se han relacionado con la disfunción miocárdica presente en algunas enfermedades, como el hipotiroidismo, el hipertiroidismo y los grandes quemados, aunque su papel en la disfunción miocárdica en la sepsis no está claro<sup>157</sup>. Nosotros encontramos una buena asociación entre los niveles de MDA y la fracción de eyección global durante las primeras 48 horas del estudio. Todos los pacientes del estudio presentaban una hipocontractilidad generalizada, valorada por GEF <25%, así como con el dPmax como índice de contractilidad cardiaca, lo que apoyaría la idea de que la producción de RL puede causar alteración de las membranas celulares, disfunción enzimática y deterioro de la función mitocondrial, ejerciendo un efecto depresor a nivel miocárdico y disminuyendo la contractilidad. La isquemia que se produce durante la sepsis, previa al fenómeno de reperfusión con la consiguiente generación de XO, guardó relación con la disfunción a nivel miocárdico, (disminución del GEF), aunque esta asociación sólo la observamos en aquellos pacientes que sobreviven a las 24 horas de ingreso, como muestran estudios realizados en pacientes con enfermedad cardiaca<sup>157, 158</sup> y el estudio en el



que una infusión de XO producía una disminución en la contractilidad miocárdica, en el índice cardiaco, dPmax y en la presión sistólica del ventrículo izquierdo<sup>159</sup>.

Como hemos comentado anteriormente, el daño por reperfusión es un término que describe las alteraciones funcionales y estructurales que aparecen durante el restablecimiento del flujo sanguíneo tras un periodo de isquemia. La restauración del flujo sanguíneo puede dar lugar a un amplio número de efectos deletéreos: necrosis de células irreversiblemente dañadas, edema celular y lo que se conoce como el fenómeno de no-reflujo, que es el resultado de un círculo vicioso de disfunción endotelial vascular y reducción de la perfusión local tras periodos de isquemia mayores de tres horas y que no tiene lugar hasta varias horas después de la reperfusión. Este fenómeno podría ser en parte el responsable de la persistencia de la respuesta inflamatoria y la elevación persistente de algunos marcadores en el shock séptico<sup>148</sup>, como reflejan algunos estudios<sup>45</sup> en pacientes con SIRS que, a lo largo de su evolución presentan FMO.

## **6.- HOMOCISTEÍNA, ESTADO NUTRICIONAL Y RELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS EN LA SEPSIS:**

La homocisteína (HCY) se ha considerado en los últimos años como un factor de riesgo vascular y de trombosis venosa. Diversos estudios han relacionado los niveles de HCY con el daño endotelial en la ateromatosis y con la mortalidad<sup>160</sup>. Sin embargo, encontramos pocos estudios en la literatura que valoren los niveles de HCY y sus efectos a nivel del endotelio en pacientes sépticos. En este trabajo, hemos estudiado los niveles de HCY y su implicación en la fisiopatología de la sepsis, valorando su papel en la respuesta inflamatoria y su posible efecto protrombótico y pro-oxidante en este grupo de enfermos.

Se han descrito niveles plasmáticos elevados y niveles normales, incluso disminuidos, en pacientes críticos. Nosotros no encontramos diferencias

significativas entre el grupo de enfermos y el grupo control, incluso los niveles son más bajos en el grupo de enfermos, lo que podría explicarse por una disminución de las proteínas plasmáticas y principalmente la albúmina, ya que un 70% de la HCY circula ligada a las proteínas y éstas se encuentran disminuidas en los pacientes críticos. En este sentido, la homocisteína podría actuar como marcador de desnutrición en los pacientes sépticos, por su relación con la albúmina. Los valores de HCY dependen de una serie de vitaminas, entre ellas la vitamina B12 y el ácido fólico que actúan como co-enzimas en las principales vías del metabolismo. Hemos encontrado una estrecha correlación entre los niveles de bajos de vitamina B12 y los niveles de HCY, tanto en el momento de inclusión en el estudio como al final del mismo. Sin embargo, dicha correlación no existe con los niveles de ácido fólico en el momento del estudio, pero sí en la última determinación. El déficit vitamínico en pacientes críticos y dentro de ellos en el grupo de pacientes sépticos es un hecho frecuente, y un aumento en los niveles de HCY se han relacionado en diversos estudios con niveles bajos de vitaminas. Tras estos resultados se ha propuesto una suplementación con vitaminas en dichos pacientes para intentar contrarrestar la elevación en los niveles de HCY<sup>161</sup>.

Niveles elevados de HCY se han propuesto como predictores de mortalidad a largo plazo en diversos estudios, independientemente de la presencia de patología aterotrombótica<sup>162-164</sup>. Estos datos son similares a los obtenidos en nuestro estudio, en el que, aunque sin alcanzar nivel de significación, los pacientes que fallecían presentaban niveles de HCY a su ingreso que tendían a ser superiores a los que sobrevivían pero, al igual que estudios realizados en pacientes sépticos, no obtuvimos relación con las escalas de gravedad, ni con la presencia de disfunción multiorgánica valorada por la escala SOFA.

Considerando la sepsis como un estado pro-inflamatorio y pro-coagulante, en el que se produce un daño endotelial similar al que encontramos en la ateromatosis, valoramos la relación en los niveles de HCY con diferentes

marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo. Estudios previos han descrito que la IL-6 y la IL-1RA son predictores independientes de los niveles plasmáticos de HCY, en series de pacientes de edad superior a 65 años, aunque no para edades mayores, lo cual se ha asociado a un estado pro-inflamatorio presente en los pacientes ancianos o muy ancianos, aunque en ninguno de estos estudios han sido incluidos pacientes sépticos<sup>165</sup>. Nosotros no encontramos ninguna correlación con los niveles de citoquinas ni con los anticoagulantes naturales PC y AT III, lo cual en el caso de las citoquinas podría deberse al patrón de presentación tras el estímulo infeccioso y su vida media. Por el contrario, encontramos una correlación positiva con los factores VII y VIII de la coagulación, indicativo de una puesta en marcha de la cascada de la coagulación, y con los niveles de MDA, que al igual que el estudio de Morhelly y col<sup>78</sup>, sugiere el papel pro-oxidante que ejerce la HCY. No encontramos ninguna relación entre la disfunción endotelial asociada a la XO y la producida por la HCY. Cabe destacar que no hemos encontrado en la literatura estudios en los que hayan sido valorados estos marcadores en relación con la HCY.

#### **7.- MARCADORES DE INFLAMACIÓN, COAGULACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES SÉPTICOS CON FRACASO RENAL AGUDO Y SOMETIDOS A TÉCNICAS DE DEPURACIÓN RENAL CONTINUA:**

Los mediadores de la inflamación deben mantenerse en una proporción adecuada para conseguir una respuesta inmune efectiva. La llamada “*Peak concentration hypothesis*” sugiere que la sepsis puede dar lugar a un trastorno completo de la respuesta inmunológica, con picos de mediadores pro y antiinflamatorios de forma simultánea, que explicaría que aparezcan a la vez la respuesta sistémica inflamatoria y la anergia o hiporreactividad celular<sup>8,34</sup>.

En este sentido, la purificación de la sangre por las terapias extracorpóreas, Técnicas de Depuración Renal Continuas (TDRC), partía de la premisa que la eliminación de mediadores inflamatorios podría mejorar el resultado en el shock séptico. La posibilidad de aclaramiento de un mediador depende de: su peso molecular, estructura espacial, de sus características fisicoquímicas, su unión a otras sustancias, las características fisicoquímicas de la membrana empleada y del mecanismo de aclaramiento empleado. A pesar de la evidencia de la eliminación de mediadores de la inflamación *in vitro* mediante TDRC, muchos autores no han encontrado diferencias estadísticamente significativas en estudios *in vivo*<sup>166</sup> en cuanto a la capacidad de estas técnicas para reducir las concentraciones de los mediadores. Por otro lado, se plantea si al mismo tiempo que se depuran citoquinas proinflamatorias también se pierden moléculas contrarreguladoras que podrían tener un efecto beneficioso.

En nuestra serie, los valores iniciales de interleuquinas no diferían entre aquellos que precisaron durante las primeras 24 horas la instauración de técnicas de sustitución renal de aquellos que no precisaron. Simmons y col, observaron por el contrario niveles superiores en todos los pacientes con fracaso renal agudo, al compararlos con sujetos sanos y otros con enfermedad renal crónica en hemodiálisis, y estos niveles se relacionaban con la mortalidad<sup>166</sup>, al igual que el estudio de Himmelfarb y col<sup>167</sup> que encuentra valores superiores de citoquinas en pacientes sépticos con fracaso renal agudo. A las 48 horas de inicio de las TDRC, encontramos que los niveles de IL-8 y TNF- $\alpha$  se han reducido a la mitad en los pacientes sometidos a TDRC las 24 horas previas, aunque esta reducción no es significativa al comparar con los pacientes que no precisaron de dicha técnica. Por el contrario, los niveles de IL-6 y los de IL-10 ascienden, aunque de forma no significativa, tras el inicio de la técnica y disminuyen en los que no la precisan. Estos resultados se asemejan a los encontrados por Yekebas y col<sup>168</sup> que también encontraron un descenso de los niveles de ciertas citoquinas a las horas de inicio de

las TDRC y por contra, difieren de los de Cole y cols<sup>169</sup>, el cual no encontró a las 48 horas de tratamiento reducción en los niveles de citoquinas a pesar de haber utilizado altos flujos (cuanto mayor sea el volumen filtrado mayor capacidad de extracción se conseguirá), concluyendo que tanto el mecanismo de convención, como el de adsorción, en el momento actual son insuficientes para tener un efecto en la concentración sanguínea de citoquinas.

Los factores de coagulación no muestran cambios en los pacientes sometidos a TDRC, a pesar del teórico estímulo que supondría el paso de la sangre por el circuito extracorpóreo. Como toda terapia extracorpórea continua, las TDE requieren el contacto continuo de la sangre del paciente con superficies. Este evento activa las cascadas de coagulación y del complemento, leucocitos y plaquetas. Los leucocitos activados liberan mediadores inflamatorios e inducen estrés oxidativo, la transformación de lípidos y proteínas y contribuyen a la lesión endotelial. Las plaquetas activadas se agregan y estimulan la generación de trombina.

El efecto anticoagulante de las heparinas depende de la potenciación de la antitrombina, el inhibidor endógeno más importante de la trombina y otros factores de coagulación. En pacientes críticamente enfermos, sin embargo, las concentraciones de ATIII se reducen a menudo como resultado del consumo debido a la activación de la coagulación en condiciones tales como la sepsis o la inflamación sistémica. La ATIII también se reduce como resultado de la degradación proteolítica por la elastasa derivada de los granulocitos, y este efecto es en realidad reforzado por la heparina<sup>170</sup>. Durante la inflamación, aumenta la liberación de elastasa mientras que su inactivación se reduce, debido a los radicales de oxígeno disminuye la actividad de su inactivador natural, la  $\alpha$ 1-antitripsina. Tanto el alto consumo de AT como el aumento de la degradación de la AT contribuyen así a la resistencia a la heparina durante la enfermedad crítica<sup>171</sup>.

El tratamiento con hemodiafiltración venovenosa continua causa la

degranulación de las células polimorfonucleares y el aumento de estrés oxidativo que podría estar mediado por la reacción entre la sangre y la membrana del dializador. Existe además diferencia dependiendo del tipo de membrana empleado, dado que parece que este fenómeno es más acusado en aquellos casos en los que se emplean membranas de poliacrilonitrilo comparado con dializadores de polisulfona<sup>172-174</sup>.

De acuerdo a lo comentado anteriormente, en los pacientes con tratamiento sustitutivo renal, la generación de sustancias prooxidantes, así como la pérdida de sustancias antioxidantes puede aumentar el estrés oxidativo y producir un daño añadido a nivel molecular.

La existencia de una relación entre estrés oxidativo y patología cardiovascular en pacientes con hemodiálisis ha sido demostrada en varios estudios, sin embargo, pocos estudios han valorado el estrés oxidativo en pacientes sépticos que precisaron TDRC<sup>174</sup>.

El nivel de oxidantes en el momento de inclusión en el estudio fue similar en aquellos pacientes que precisaron TDRC en comparación con los que no precisaron de ella. Aunque varios autores han encontrado niveles elevados de MDA como producto final de la peroxidación lipídica en pacientes con ERC y HD. No encontramos diferencias significativas en ninguno de los parámetros de estrés oxidativo, MDA, XO y el cociente GSH/GSSG, por lo que no podemos afirmar que los pacientes sépticos con fracaso renal y necesidad de terapia de sustitución renal presenten mayor grado de estrés oxidativo.

Los niveles de MDA a las 48 horas de inclusión en el estudio fueron inferiores en los pacientes sometidos a TDRC, contrariamente a lo que sugiere De Vecchi y cols<sup>175</sup> que los niveles elevados serían atribuibles al bajo filtrado glomerular, ya que el MDA es una molécula de bajo peso molecular e hidrosoluble que se encuentra en plasma libre o ligada a otras macromoléculas, y ésta última no sería eliminada por la convección y difusión. Considerando que uno de los agentes

causantes de la insuficiencia renal aguda en la sepsis es el fenómeno de isquemia-reperfusión, en condiciones de isquemia se promueve la conversión de la xantina deshidrogenasa, no generadora de EROS, en xantina oxidasa, la cual favorece la oxidación de xantina a ácido úrico con la generación de RL. En este sentido, observamos una buena relación entre los niveles iniciales de XO y los niveles plasmáticos de creatinina en el momento de inclusión en el estudio. La actividad de XO tendió a ser superior en pacientes que precisaron TDRC, aunque no de forma significativa, y estos niveles eran claramente superiores a las 48 horas de tratamiento sustitutivo, lo que podría significar el resultado de la isquemia producida por afectación de la microcirculación a nivel glomerular y medular, junto la presencia de niveles de lactato elevados en estos pacientes.

Con todo lo expuesto, se deduce que las TDRC, además de eliminar mediadores plasmáticos, pueden condicionar un estado inflamatorio persistente, que justificaría una elevación de los niveles de PCR tras el inicio de la técnica. Los niveles de procalcitonina como marcador de infección bacteriana utilizado en nuestra práctica clínica habitual, pueden verse alterados en los pacientes con ERC<sup>176</sup>, al existir una síntesis aumentada de PCT por los macrófagos periféricos en pacientes con función renal severamente reducida y sometidos a terapias de reemplazo renal<sup>177</sup>, hecho que encontramos en nuestra serie, pero que no podemos comparar al no disponer de estudios realizados en pacientes sépticos con fracaso renal agudo.

Debido al pequeño tamaño muestral y a los pocos estudios publicados en pacientes con FRA y TDRC, no podemos afirmar que esta técnica consiga mejorar el equilibrio redox. Así mismo, y al igual que el estudio de Cole y cols<sup>168</sup> no observamos ninguna asociación entre la mortalidad y las TDRC.

Se precisan de más estudios para responder a la pregunta de si la eliminación de los mediadores tóxicos ejercen un impacto en el curso de la sepsis. Así mismo, considerando uno de los factores más implicados en la eliminación de

mediadores, la biocompatibilidad de la membrana extracorpórea, se deberían desarrollar membranas con mayor poder de eliminación y con menores efectos deletéreos sobre los sistemas de defensa que se ponen en marcha en el curso de la sepsis.

#### **8.- INTERACCIÓN ENTRE INFLAMACIÓN, COAGULACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO Y SU RELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS DE SEPSIS:**

Existe una interrelación entre inflamación y coagulación en la sepsis. La inflamación no sólo provoca una activación del sistema de la coagulación e inhibición de los mecanismos anticoagulantes, sino que el estado procoagulante en la sepsis es capaz de modular la respuesta inflamatoria. En estudios experimentales se ha observado que una disminución en los niveles de PC se acompañaba de un aumento de las citoquinas proinflamatorias, hecho que observamos en nuestros pacientes, en los que los niveles de IL-6 se correlacionan de forma negativa con los niveles de PC. Por otro lado, la AT III disminuye la producción de IL-6 por los monocitos y el endotelio, aunque en este sentido no observamos ninguna correlación.

La hipoperfusión tisular puede jugar un papel en la activación del endotelio y en la puesta en marcha de los mecanismos de inflamación y coagulación en pacientes sépticos. Los pacientes con shock séptico se caracterizan por un estado inicial de hipotensión y mala perfusión tisular y por tanto, cabe esperar que presenten una elevación de las citoquinas proinflamatorias y una disminución de los anticoagulantes naturales. En este sentido, encontramos en nuestra serie una correlación entre los niveles de lactato, como marcador de perfusión tisular, y las citoquinas, y una tendencia con la PC y el factor XII, aunque en estos dos últimos de forma no significativa. Esta falta de significación, así como la ausencia de correlación con la SvO<sub>2</sub>, podría justificarse por la atenuación de la respuesta



inflamatoria tras la resolución de la perfusión tisular, ya que la reanimación hemodinámica es el pilar básico del tratamiento precoz en la sepsis.

A su vez, en la respuesta inflamatoria se produce liberación de mediadores secundarios, entre los que se encuentran las ERO. Las EROs tienen propiedades pro-inflamatorias, entre las que se incluyen daño al endotelio, formación de factores quimiotácticos, reclutamiento de neutrófilos y formación de peroxinitrito. Además, activan factores que median la transcripción de genes de citoquinas, el más conocido el factor nuclear  $\kappa$ B y éste tendría repercusión en la expresión y control de la respuesta inmunoinflamatoria mediada por citoquinas, ejerciendo un *feed-back* predominantemente positivo, aumentando los efectos deletéreos observados en la sepsis<sup>178</sup>.

Aunque observamos relaciones entre los diferentes marcadores estudiados, no pudimos establecer una clara relación entre los tres pilares que intervienen en la evolución de la sepsis grave y shock séptico, la inflamación, la coagulación y el estrés oxidativo, junto al daño endotelial producido por la mayor parte de los marcadores liberados, y que perpetúa de alguna forma esa lesión en el tiempo.

Este trabajo, a diferencia de lo publicado hasta el momento ha pretendido estudiar el comportamiento de los diferentes marcadores a partir de la Fisiología y Fisiopatología, y valorar sus niveles en el momento de ingreso y durante su evolución. Hasta el momento encontramos publicaciones de los diferentes marcadores, pero en ninguna de ellas se ha considerado una valoración conjunta. Con los objetivos planteados inicialmente, consideramos un análisis multivariante para poder determinar si algún factor de los estudiados en cada campo, de inflamación, coagulación y estrés oxidativo, podían ser predictivos de mortalidad y que nos permitiera crear un panel de marcadores para los pacientes con sepsis grave y shock séptico, marcadores con posibilidad de determinación intrahospitalaria, al ingreso y que nos ayudara al manejo inicial y posterior del

paciente séptico pero, probablemente debido al tamaño muestral no pudo establecerse.

Como he comentado anteriormente, los pacientes incluidos en el estudio tenían una elevada gravedad, todos ellos con presencia en el momento de disfunción multiorgánica (disfunción hemodinámica y respiratoria se consideraron criterios de inclusión), lo que probablemente tampoco ha permitido encontrar grandes diferencias en cuanto a mortalidad, y es una factor que lo diferencia de los estudios publicados hasta el momento.

Se han establecido determinadas relaciones entre los diferentes marcadores y parámetros clínicos, tanto de laboratorio como de monitorización, algunas ya descritas anteriormente y otras, como las de marcadores de estrés oxidativo con la disfunción miocárdica y el fracaso renal agudo, que incitan a la realización de estudios con mayor número de pacientes para poder obtener conclusiones más definitivas.



## **6. CONCLUSIONES**



1) Los niveles plasmáticos de los marcadores de inflamación, coagulación y estrés oxidativo difieren entre los pacientes sépticos y el grupo control, observándose una reacción inflamatoria sistémica en los pacientes con liberación de mediadores pro-inflamatorios, entre ellos citoquinas, un estrés oxidativo, y un estado pro-coagulante con posible repercusión a nivel endotelial.

2) Nuestros resultados no permiten predecir una relación entre los niveles séricos basales al ingreso de los diferentes marcadores de inflamación, de coagulación y marcadores de estrés oxidativo con la mortalidad de los pacientes sépticos. Únicamente los niveles basales de GSH en sangre parecen relacionarse con el desenlace final.

3) Los parámetros de inflamación estudiados, así como los de estrés oxidativo muestran una evolución heterogénea en el tiempo que no permite discriminar aquellos pacientes con peor pronóstico. La progresiva normalización de los niveles de proteína C, proteína S, AT III y los factores de coagulación II y VII entre los parámetros de coagulación y la IL-6 como parámetro de inflamación se acompañaba de mejor pronóstico. Asimismo, un descenso de los niveles de GSH se asociaban a mayor mortalidad.

4) Los niveles de interleuquina-8 se relacionan con la gravedad valorada por el APACHE II, mientras que el cociente interleuquina-10/TNF $\alpha$  y los niveles de antitrombina III muestran relación con la disfunción orgánica valorada por el SOFA score. Los parámetros de estrés oxidativo no mostraron correlación significativa con la gravedad ni con la disfunción orgánica.

5) Las citoquinas proinflamatorias, junto con los niveles de MDA y de XO, se correlacionan con la disfunción miocárdica en la sepsis, valorada con sistema de monitorización hemodinámica invasiva.

6) Los pacientes con fracaso renal agudo muestran aumento de las citoquinas proinflamatorias y de la xantina oxidasa como marcador de isquemia reperusión.

7) Se establece una buena relación entre los niveles de lactato como marcador de perfusión tisular y las citoquinas.

8) Se observa una relación de los niveles de homocisteína con algunos factores de coagulación y marcadores de estrés oxidativo, lo que indica que niveles discretamente elevados de HCY podrían producir tanto activación de la coagulación como un aumento del estrés oxidativo.

9) Se establece una relación entre los marcadores de inflamación y los de coagulación, sugestivo de una interrelación entre inflamación y coagulación.

10) Con las Técnicas de Depuración Renal Continuas se eliminan gran parte de los mediadores inflamatorios de la circulación. Sin embargo, las características de la técnica y el material empleado podrían ejercer un efecto adverso y poner en marcha tanto mecanismos inflamatorios como de generación de radicales libres.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**





1. Angus DC, Van Der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 840-851.
2. Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864-74.
3. Reig R, Belenguer A, Cubedo M, Carregui R, Abizanda R. Síndrome de Respuesta Inflamatoria Inespecífica (SIRS). Análisis epidemiológico en una UCI. Congreso Nacional SEMICYUC 1999.
4. Belenguer A, Reig R, Bisbal E, Abizanda R, Ferrándiz A. Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica inespecífica (SIRS) e infección. Valoración de su influencia en el desarrollo de disfunción multiorgánica en enfermos críticos. Congreso Nacional SEMICYUC 1999.
5. Levy MM, Fink MP, Marshall JC et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250-1256.
6. Abraham E, et al: Consensus Conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. *Crit Care Med* 2000; 28:232-235.
7. Torradella de Reynoso P. Aspectos generales de la sepsis y el shock séptico. En: Torradella de Reynoso. Sepsis grave. Barcelona, 1ª edición, Ediciones Experiencia, 2002; 1-20.
8. Martín Delgado MC. Fisiopatología: respuesta del huésped a la infección. Mediadores inflamatorios y antiinflamatorios. El óxido nítrico, citocinas. En: Torradella de Reynoso. Sepsis grave. Barcelona, 1ª edición, Ediciones Experiencia, 2002; 21-34.

9. Tomicic V, Guerrero J. Endotelio y sepsis. *Medicina Intensiva* 2005; 29 (3): 142-150.
10. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 1999; 340: 207-214.
11. Dinarello Ch. Proinflammatory cytokines. *Chest* 2000; 118: 503-508.
12. Thijs LG, Hack CE. Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med* 1995; 21: S258-263.
13. Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R, Leeper K. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* 1995; 107 (4): 1062-1073.
14. Pinsky M, Vincent JL, Deviere J, Alegre A, Kahn RJ, Dupont E. Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality. *Chest* 1993; 103: 565-75.
15. De Werra I, Jaccard C, Corradin SB, Chioloro R, Yersin B, Gallati H, Assicot M, Bohuon C, Baumgartner JD, Glauser M, Heumann D. Cytokines, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: Comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock, and bacterial pneumonia. *Crit care Med* 1997; 25: 607-613.
16. De Pablo Sánchez R. Balance entre citocinas pro y antiinflamatorias en estados sépticos. *Med Intensiva* 2005; 29 (3): 151-8.
17. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, Vadas L, Pugin J; Geneva Sepsis Network. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:396-402.

18. Damas P, Ledoux D, Nys M, Vrindts Y, de Groote D, Franchimont P, Lamy M. Cytokine serum level during severe sepsis in human IL-6 as a marker of severity. *Ann Surg* 1992; 215 (4): 356-362.
19. Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL. Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma. *Crit Care Med* 1997; 25: 1813-1819.
20. Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M. Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care Part II: Clinical implications. *Journal of Intensive Care Medicine* 2011; 26(2): 73-87
21. Martínez R, Menéndez R, Reyes S, Polverino E, Cillóniz C, Martínez A et al. Factors associated with inflammatory cytokine patterns in community-acquired pneumonia. *ERJ Express* 2010.
22. Patel RT, Deen KI, Youngs D et al. Interleukin-6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis. *Br J Surg* 1994; 81: 1306-1308.
23. Song M, Kellum JA. Interleukin-6. *Crit Care Med* 2005; 33 (12): S463-S465.
24. Martin C, Saux P, Mege JL, Perrin G, Papazian L, Gouin F. Prognostic values of serum cytokines in septic shock. *Intensive Care med* 1994; 20 (4): 272-277.
25. Gómez-Jiménez J, Martín MC; Sauri R et al. Interleukin 10 and the monocyte/macrophage-induced inflammatory response in septic shock. *J Infect Dis* 1995; 171: 472-475.
26. Heper Y, Akalin EH, Mistik R, Akgöz S, Töre O, Göral G, Oral B, Budak F, HelvacıS. Evaluation of serum C-reactive protein, procalcitonin, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-10 levels as diagnostic and prognostic parameters in patients with community-

- acquired sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006 Aug;25(8):481-91.
27. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, 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* 2000; 181: 176-80.
  28. Gutiérrez de la Peña C, Ruiz Robles A, Márquez Platero R, Domínguez-Adame E, García Molina F, Montes Posada E, Medina Díez, J. Las interleucinas 6, 8 y 10 en la fase inicial de la pancreatitis aguda. Su utilidad pronóstica. *Cir Esp*. 2000;68:187-92.
  29. Hack CE, Hart M, van Schijndel RJ, Eerenberg AJ, Nuijens JH, Thijs LG, et al. Interleukin-8 in sepsis: relation to shock and inflammatory mediators. *Infect Immun* 1992; 60: 2835-42.
  30. Andaluz-Ojeda D, Bobillo F, Iglesias V, Almansa R, Rico L, Gandía F, et al. A combined score of pro- and anti-inflammatory interleukins improves mortality prediction in severe sepsis. *Cytokine* 2012; 57: 332-6.
  31. De Pablo R et al. Papel de las quimioquinas solubles circulantes en el shock séptico. *Med Intensiva* 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medin.2012.09.008>.
  32. Fujishima S, Sasaki J, Shinozawa Y, Takuma K, Kimura H, Suzuki M, et al. Serum MIP-1alpha and IL-8 in septic patients. *Intensive Care Med* 1996; 22: 1169-75.
  33. Shorr AF, Thomas SJ, Alkins SA, Fitzpatrick TM, Ling GS. D-dimer correlates with pro-inflammatory cytokine levels and outcomes in critically ill patients. *Chest* 2002; 121: 1262-1268.
  34. Ruiz JC, Bóveda JL. Fisiopatología de la sepsis. Inflamación y alteraciones de la hemostasia. En: Torradadella P, León C. *Sepsis, sepsis grave y shock séptico*. 1ª edición, Editorial Edikamed, 2005; 43-62.

35. Andresen M, Regueira T, Leighton F. Estrés oxidativo en el paciente crítico. *Rev Med Chile* 2006; 134: 649-656.
36. Pérez de la Cruz A, Abilés J, Castaño Pérez J. Estrés oxidativo y su implicación en distintas patologías. *Nutr Clin Med* 2008; 2: 45-64
37. Bayır H. Reactive oxygen species. *Crit Care Med* 2005; 33 (12): S498-S501.
38. Grune T, Berger MM. Markers of oxidative stress in ICU clinical settings: present and future. *Current Opinion in Critical Nutrition and Metabolic Care* 2007; 10: 712-717.
39. Roshan-Ali Y. Oxidants and antioxidants: Pathophysiological determinants and therapeutic agents. International Symposium organized by Zambon Group. Marbella: October 26-27.
40. George J, Struthers AD. Role of urate, xanthine oxidase and the effects of allopurinol in vascular oxidative stress. *Vasc Health Risk Manag* 2009; 5(1): 265-272.
41. Cohen G. Lipid peroxidation: detection in vivo and in vitro the formation of saturated hydrocarbon gases. En *CIBA foundation: Oxygen Free Radicals and Tissue Damage*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1979: 177-182.
42. Crimi E, Sica V, Williams-Ignarro S, Zhang H, Slutsky AS, Ignarro LJ, Napoli C. The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radical Biology & Medicine* 2006; 40: 398 – 406.
43. Goode Hf, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Webster NR. Decreased antioxidante status and increased lípido peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med* 1995; 23: 646-651.
44. Alonso de vega JM, Díaz J, Serrano E, Carbonell LF. Plasma redox status relates to severity in critically ill patients. *Crit Care Med* 2000; 28: 1812-1814.

45. Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, Hamaguchi M, Kinoshita Y, Ogawa H. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2003; 31: 1048-1052.
46. Ogilvie, A. C.; Groeneveld, A. B.; Straub, J. P.; Thijs, L. G. Plasma lipid peroxides and antioxidants in human septic shock. *Intens. Care Med* 1991; 17:40–44; 1991.
47. Galley, H. F.; Davies, M. J.; Webster, N. R. Xanthine oxidase activity and free radical generation in patients with sepsis syndrome. *Crit. Care Med* 1996; 24:1649 – 1653.
48. Metnitz, P. G.; Bartens, C.; Fischer, M.; Fridrich, P.; Steltzer, H.; Druml, W. Antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Int Care Med* 1999; 25:180-518.
49. Quinlan GJ, Evans TW, Gutteridge JMC. Oxidative damage to plasma proteins in adult respiratory distress syndrome. *Free Radic Res* 1994; 20: 289-299.
50. Bunnell E, Pacht ER. Oxidized glutathione is increased in the alveolar fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1174-1178.
51. Pereda J, Sabater L, Aparisi L, Escobar J, Sandoval J, Viña J, López-Rodas G, Sastre J. Interaction between cytokines and oxidative stress in acute pancreatitis. *Curr Med Chem* 2006; 13 (23): 2775-87).
52. Escobar J, Pereda J, Sandoval J, Sabater L, Aparisi L, López-Rodas G, Sastre J. Cross-talk between oxidative stress and proinflammatory cytokines in acute pancreatitis: a key role for proteína phosphatases. *Curr Pharm Des* 2009; 15 (26): 3027-42.
53. McClave SA. Driver of oxidative stress in acute pancreatitis. *Journal of parenteral and enteral nutrition* 2012; 36 (1): 24-35).
54. Curran, F. J.; Sattar, N.; Talwar, D.; Baxter, J. N.; Imrie, C. W. Relationship of carotenoid and vitamins A and E with the acute

- inflammatory response in acute pancreatitis. *Br. J. Surg.* 2000; 87:301 – 305.
55. García de lorenzo A, Quintana M. *Revista Electrónica de Medicina Intensiva* 2004; 12 (4): C20.
56. Fourrier F. *Crit Care Med* 2012; 40 (9): 2704-2708.
57. Amaral A, Opal SM, Vincent JL. Coagulation in sepsis. *Intensive Care Medicine* 2004; 30: 1032-1040.
58. Bóveda Treviño JL. Alteraciones en la coagulación y la fibrinólisis, aspectos clínicos. En: Torradadella de Reynoso P. *Sepsis grave*. Barcelona, 1ª edición, Ediciones Experiencia, 2002; 45-58.
59. Levi M, Opal S. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Critical Care* 2006, 10:222.
60. Santos Ampuero M, Martín Celemín R, De Dios Tomás E. Respuesta inflamatoria y sistema de la coagulación en la sepsis. En: Gilsanz F, Roses R. *Sepsis en el paciente quirúrgico*. Barcelona, 1ª edición, Editorial Glosa, 2004; 95-118.
61. Salluh JI, Rabello LS, Rosalem MM, Soares M, Bozza FA. The impact of coagulation parameters on the outcomes of patients with severe community-acquired pneumonia requiring intensive care admission. *J. Crit Care* 2011; 26 (5): 496-501.
62. Reinhart K, Bayer O, Brunkhorst F et al. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit Care med* 2002; 30 (Suppl): S302-S12.
63. Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL, Kollef MJ, Levi M, Reinhart K, Nelson DR. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: Relationship with mortality and organ failure *Crit Care Med* 2005; 33:341–348.



64. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S et al. Septic shock, multiple organ failure and disseminated intravascular coagulation. *Chest* 1992; 101: 816-823.
65. Inthorn D et al. Antithrombin III supplementation in severe sepsis: beneficial effects on organ dysfunction. *D Shock* 1997; 8: 328-334.
66. Fourrier F et al. Double-blind placebo-controlled trial of antithrombin III-concentrates in septic shock with disseminated intravascular coagulation. *Chest* 1993; 104: 882-888.). Estudio KyberSept. *JAMA* 2001; 286: 1869-78.
67. Eisele B, Lamy M, Thijs LG, Keinecke HO et al. Antithrombin III in patients with severe sepsis. A randomized, placebo-controlled, double-blind multicenter trial plus a meta-analysis on all randomized placebocontrolled, double-blind trials with antithrombin III in severe sepsis. *Intensive Care Med* 1998; 24: 663-672.
68. Lorente JA, García Frade LJ, Landin L et al. Time course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest* 1993; 103: 1536-42.
69. Shorr A, Bernard G, Dhainaut JF, Russell J, Macias W, Nelson D, Sundin D. *Crit Care Med* 2006; 10: R92.
70. Yaguchi A, Lobo FLM, Vincent JL, Pradier O. Platelet function in sepsis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004; 2: 2096-2102
71. Woth G, Varga A, Ghosh S, Krupp M, Kiss T, Bogar L, Mühl D. Platelet aggregation in severe sepsis. *J Thromb Thrombolysis* 2011; 31: 6-12.
72. Ruiz AM, Laverde DP. La homocisteina y la enfermedad cardiovascular. *Perspectivas en nutrición humana* 2006; 16: 53-66.
73. Malinow MR, Boston AG, Krauss RM. Homocysteine, diet, and cardiovascular diseases. *Circulation* 1999; 99: 178-182.
74. Sekhon BS et al. Hyperhomocysteinemia: an overview. *Pharmacie Globale (IJCP)* 2013; 05(01).

75. Dhajuria A, Houston DS. Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. *Blood* 2000; 96: 966-972.
76. Gori AM, Sofi F, Marcucci R, Giusti B, Gensini GF, Abbate R. Association between homocysteine, vitamina B6 concentrations and inflammation. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45 (12): 1728-1736.
77. Coelho A, Palácio R, Peruzzo MB, Camargo L, D'Almeida V, Gomes JL, Resende FG, Ribeiro F. Homocysteine plasma levels as a marker of clinical severity in septic patients. *Rev Bras Ter Intensiva* 2010; 22 (4): 327-332.
78. Mosselhy SS, Demerdash SH. Plasma homocysteine and oxidative stress in cardiovascular disease. *Diseases markers* 2003, 2004; 19: 27-31.
79. Ellis, G, Jagger, J, Sharpe, M. *Critical Care* 2005, 9(suppl 4): S3-S8
80. Astiz ME, Rackow EC, Falk JL: Oxygen delivery and consumption in patients with hyperdynamic septic shock. *Crit Care Med* 1987; 15: 26-28.
81. Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL et al: Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med* 1984; 100: 483-490.
82. Vincent J, Cris P, Coffernills M et al: Myocardial depression characterizes the fatal course of septic shock. *Surgery* 1992; 111: 660-667.
83. Nelson LD. The value of SvO<sub>2</sub> measurement. *Réan Urg* 1996, 5 (2 bis), 200-203.
84. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, Peterson E, Tomlanovich M. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *New Engl J Med* 2001; 345: 1368-77.

85. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for the Management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med* 2008; 36: 296-327.
86. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for the Management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med* 2013; 41 (2): 580-637.
87. Nelson LD. Continuous venous oximetry in surgical patients. *Ann Surg* 1986, 203, 329-333.
88. Nelson LD. The value of SvO<sub>2</sub> measurement. *Réan Urg* 1996, 5 (2 bis): 200-203.
89. Kruse JA, Mehta KC, Carlson RW. Definition of clinically significant lactic acidosis. *Chest* 1987; 100: 100S.
90. Trzeciak S, Dellinger RP, Chansky ME, Arnold RC, Schorr C, Milcarek B, Hollenberg SM, Parrillo JE. Serum lactate as a predictor of mortality in patients with infection. *Intensive Care Medicine* 2007, 33(6):970-7.
91. Vincent JL, Dufaye P, Berré J, Leeman M, Degaute JP. Serial lactate determinations during circulatory shock. *Crit care Med* 1983; 11: 449-451.
92. Jansen TC, Bommel J, Schoonderbeek FJ, Sleswijk Visser SJ, Van der Klooster JM, Lima AP, Willemsen SP, Bakker J, for the LACTATE study Group. Early Lactate-Guided Therapy in Intensive Care Unit Patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182 (6): 752-61.
93. Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP, Jacobsen G, Muzzin A, Ressler JA, Tomlanovich MC. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32 (8): 1637-1642.
94. Arnold RC, Shapiro NI, Jones AE, Schorr Ch, Pope J, Casner E, Parrillo JE, Dellinger RP, Trzeciak S. Multi-Center Study of Early

- Lactate Clearance as a Determinant of Survival in Patients with Presumed Sepsis. *Shock* 2008.
95. Nguyen HB, Loomba M, Yang JJ, Jacobsen G, Shah K, Otero RM, Suarez A, Parekh H, Jaehne A, Rivers EP. Early lactate clearance is associated with biomarkers of inflammation, coagulation, apoptosis, organ dysfunction and mortality in severe sepsis and septic shock. *Journal of Inflammation* 2010; 7: 6.
  96. Vincent JL, Moreno R, Takala J et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 1996; 22: 707-10.
  97. Ferreira FL, Bota DP, Bross A et al. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA* 2001; 286: 1754-58.
  98. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE: APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-29.
  99. García de Lorenzo A. Scores pronósticos y criterios diagnósticos. Madrid, 2ª edición, Ediciones Ergon, 2006.
  100. Andresen M, Regueira T. Disfunción miocárdica en la sepsis. *Rev Med Chile* 2010; 138: 888-896.
  101. Krishnagopalan S, Kumar A, Parrillo JE, Kumar A. Myocardial dysfunction in the patient with sepsis. *Current Opinion in Critical Care* 2002; 8 (5): 376-388.
  102. Parrillo JE, Burch C, Shelhamer JH, Parker MM, Natanson C, Schuette W. A circulating myocardial depressant substance in humans with septic shock. Septic shock patients with a reduced

- ejection fraction have a circulating factor that depresses in vitro myocardial cell performance. *J Clin Invest* 1985; 76: 1539-53.
103. Court O, Kumar A, Parrillo JE, Kumar A. Clinical Review: Myocardial depression in sepsis and septic shock. *Critical Care* 2002; 6: 500-508.
  104. Chen D, Assad Kottner C, Orrego C, Torre-Amione G. Cytokines and acute heart failure. *Crit care med* 2008; 36 (Suppl): S9-S16.
  105. El-Menyar AA, Davidson BL. Clinical implications of cytokines in the critical care unit. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2009; 7(7): 835-845.
  106. Kumar A, Krieger A, Symeoneides S et al. Myocardial dysfunction in septic shock. Part II. Role of cytokines and nitric oxide. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2001; 15: 485-511).
  107. Zanotti-Cavazzoni SL, Hollenberg SM. Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2009; 15(5):392-7.
  108. Maeder M, Fehr T, Rickli H, Ammann P. Sepsis-Associated Myocardial Dysfunction. Diagnostic and Prognostic Impact of Cardiac Troponins and Natriuretic Peptides. *Chest* 2006; 129:1349–1366.
  109. Witthaut R, Busch C, Fraunberger P, Walli A, Seidel D, Pilz G, et al. Plasma atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are increased in septic shock: impact of interleukin-6 and sepsis-associated left ventricular dysfunction. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1696-702.
  110. Tung RH, Garcia C, Morss AM, et al. Utility of B-type natriuretic peptide for the evaluation of intensive care unit shock. *Crit Care Med* 2004; 32:1643–1647.

111. Charpentier J, Luyt CE, Fulla Y, et al. Brain natriuretic peptide: a marker of myocardial dysfunction and prognosis during severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32:660–665.
112. Rivers EP, Mccord J, Otero R, Jacobsen G, Loomba M. Clinical utility of B-type natriuretic peptide in early severe sepsis and septic shock. *J Intensive Care Med* 2007; 22: 363-73).
113. E Kandil, J Burack, A Sawas, H Bibawy, Schwartzman A, Zenilman ME, Bluth MH. A Biomarker for the Diagnosis and Risk Stratification of Patients With Septic Shock. *Arch Surg.* 2008;143(3):242-246).
114. Turner KL, Moore LJ, Todd SR, Sucher JF, Jones SA, McKinley BA, Valdivia A, Sailors RM, Moore FA. Identification of cardiac dysfunction in sepsis with B-type natriuretic peptide. *J Am Coll Surg.* 2011 Jul;213(1):139-46.
115. Mitchel JP, Sculler D, Calandrino FS, Scuster P. Improved outcome based on fluid management in critically ill patients requiring pulmonary artery catheterization. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 990-998.
116. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis Biomarkers. A review. *Critical care* 2010; 14: R15.
117. Schmit X, Vincent JL. The time course of blood C-reactive Protein Concentrations in Relation to the response to initial antimicrobial therapy in patients with sepsis. *Infection* 2008; 36: 213-219.
118. Povia P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, mealha R, Moreira P, sabino H. C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 101-108.
119. Presterl E, Staudinger T, Pettermann M, Lassnigg A, Burgmann H, Winkler S, Frass M, Graninger W: Cytokine profile and correlation

- to the APACHE III and MPM II scores in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 825–832.
120. Lobo SM, Lobo FR, Bota DP, Lopes-Ferreira F, Soliman HM, Melot C, Vincent JL: C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest* 2003; 123: 2043– 2049.
  121. Oberhoffer M, Bitterlich A, Hentschel T, Meier-Hellmann A, Vogelsang H, Reinhart K. Procalcitonin correlates better with the ACCP/SCCM consensus conference definitions than other specific markers of the inflammatory response. *Clin Intens care* 1996; 7, Suppl 1: 46.
  122. Oberhoffer M, Vogelsang H, Russwurm S, Hartung T, Reinhart K. Outcome prediction by traditional and new markers of inflammation in patients with sepsis. *Clin Chem lab Med* 1999; 37 (3): 363-368.
  123. Meissner M, Tschaikoswsky K, Palmaers T, et al: Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care* 1999; 3:45-50.) (Rau B, Frigerio I, Büchler MW, Wegscheider K, Bassi C, Puolokkainem PA, Beger HG, Schilling MK. Evaluation of procalcitonin for predicting septic multiorgan failure and overall prognosis in secondary peritonitis. *Archa Surg* 2007; 142:134-142.
  124. Rau B, Frigerio I, Büchler M, Wegscheider K,, Bassi C, Puolakkainem P, Beger H, Schilling M. Evaluation of procalcitonin for predicting septic multiorgan failure and overall prognosis in secondary peritonitis. *Arch Surg* 2007; 142 (2): 134-142.
  125. Heyland DK, Johnson AP, Reynolds SC, Muscedere J. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in the critical care setting. *Crit Care Med* 2011; 39 (7): 1792-99.
  126. Schuetz P, Briel M, Christ-Crain M, Stolz D, Bouadma L, Wolf M et al. Procalcitonin to guide initiation and duration os antibiotic

- treatment in acute respiratory infections: an individual patient data meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2012; 55 (5): 651-662.
127. Kofoed K, Andersen O, Kronborg G, Tvde M, Peterson J, Eugen-Olsen J, Larsen K. Use of plasma C-reactive protein, procalcitonin, neutrophils, macrophage migration inhibitory factor, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in combination to diagnose infections: a prospective study. *Critical Care* 2007; 11: R38.
128. Punyadeera C. J, Schneider EM, Schuffer D, Hsu HY, Joos TO, Kriebel F, Weiss M, Verhaegh W. A biomarker panel to discriminate between systemic inflammatory response syndrome and sepsis and sepsis severity. *Emerg Trauma Shock*. 2010; 3(1): 26–35.
129. Mateu ML, Ferrándiz A, Gruartmoner G, Mesquida J, Sabatier C, Poveda Y, García X. Técnicas disponibles de monitorización hemodinámica. Ventajas y limitaciones. *Medicina Intensiva* 2012; 36: 434-444.
130. Wong, S. H. Y., J. A. Knight, S. M. Hopfer, O. Zaharia, C. N. Leach and F. W. J. Sunderma (1987). "Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct." *Clin Chem* 33: 214–20.
131. Pereda J, Pérez S, Escobar J, Arduini A, Asensi M, Serviddio G, Sabater L, Aparisi L, Sastre J. Obese rats exhibit high levels of fat necrosis and isoprostanes in taurocholate-induced acute pancreatitis. *PLoS One*. 2012; 7 (9): e44383.
132. Dougnac A, Riquelme A, Calvo M, Andresen M, Magedzo A, Eugeni E, Marshall G, Gutiérrez M. Estudio de la cinética de



- citoquinas en sepsis grave y su relación con la mortalidad y disfunción orgánica. *Rev Med Chile* 2001; 129 (4): 347-358.
133. Remick DG. *Crit Care Med* 2005; 33 (12): S466-467.
  134. Hack CE, De Groot ER, Felt-Bersma RJF, Nuijens JH, Strack Van Schijndel RJM, Eerenberg-Belmer AJM, Thijs LG, Aarden LA. Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis .
  135. Labarta L. Antitrombina III: antiproteasa moduladora de la inflamación y la coagulación. En: Torrabadella de Reynoso P. Aspectos actuales del shock séptico. 2001. Medijet s.l. Barcelona.
  136. Briceño I. Sepsis: Definiciones y aspectos fisiopatológicos. *Medicrit* 2005; 2 (8): 164-178.
  137. Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M, Van Der Poll T. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *Journal of Leukocyte Biology* 2008; 83: 536-545.
  138. Yan SB, Helterbrand JD, Hartman DL, Wright TJ, Bernard GR. Low levels of protein C are associated with poor outcome in severe sepsis. *Chest* 2001; 120: 915-922.
  139. López Rodríguez A. Alteraciones de la coagulación en la sepsis. *Medicina Intensiva* 2005; 29 (3): 166-177.
  140. Al Ghumlas AK, Abdel Gader M. The blood platelet: an intriguing cell. *Journal of Applied Hematology* 2013; 4 (1): 1-12.
  141. Favaloro EJ. Clinical utility of PFA-100. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2008; 34 (8): 709-733.
  142. Vinholt PJ, Hvas AM, Nybo M. An overview of platelet indices and methods for evaluating platelet function in thrombocytopenic patients. *European Journal of Haematology* 2014; 92 (5):376-376.
  143. Yaguchi A, Lobo FLM, Vincent JL, Pradier O. Platelet function in sepsis. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 2096-2102.

144. Woth G, Varga A, Ghosh S, Krupp M, Kiss T, Bogár L, Mühl D. Platelet aggregation in severe sepsis. *J Thromb Thrombolysis* 2011; 31: 6-12).
145. Koskenkorva-Frank TS, Weiss G, Koppenol WH, Burckhardt S. The complex interplay of iron metabolism, reactive oxygen species, and reactive nitrogen species: Insights into the potential of various iron therapies to induce oxidative and nitrosative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 2013; 65: 1174-1194.
146. Saigo K, Takenokuchi M, Hiramatsu Y, Tada H, Hishita T, Takata M, Misawa M, Imoto S, Imashuku S. Oxidative stress levels in myelodysplastic syndrome patients: their relationship to serum ferritin and haemoglobin values. *The Journal of International Medical Research* 2011; 39: 1941-1945.
147. Aslan M, Horoz M, Çelik H. Evaluation of oxidative status in iron deficiency anemia through total antioxidant capacity measured using an automated method. *Turk J Hematol* 2011; 28: 42-46.
148. De Paula M, Rodríguez de Rivaldería J, Tejedor C. Fundamentos bioquímicos de la lesión por isquemia/reperfusión: el oxígeno como molécula tóxica. En: Ladín L, Lorente JA. *El Transporte de oxígeno*. Barcelona, 1ª edición, Edikamed, 2000: 189-199.
149. Tan S, Radi R, Gaudier F, Evans RA, Rivera A, Kirk KA, Parks DA. Physiologic levels of uric acid inhibit xanthine oxidase in human plasma. *Pediatr Res* 1993; 34 (3): 303-307.
150. Radi R, Tan S, Prodanov E, Evans RA, Parks DA. Inhibition of xanthine oxidase by uric acid and its influence on superoxide radical production. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1122: 178-182.
151. Andresen M, Regueira T, Bruhn A, Perez D, Strobel P, Dougnac A, Marshall G, Leighton F. Lipoperoxidation and proteína oxidative

- damage exhibit different kinetics Turing septic shock. *Mediators Inflamm* 2008; 168652.
152. Lorente L, Martín MM, Abreu-González P, Domínguez Rodríguez A, Labarta L, Díaz C, Solé-Violán J, Ferreres J, Cabrera J, Igeño JC, Jiménez A. Sustained high serum malondialdehyde levels are associated with severity and mortality in septic patients. *Critical Care* 2013; 17: R 290.
153. Toufekoula C, Papadakis V, Tsaganos T, Routsis C, Orfanos SE, Kotanidou A, Carrer DP, Raftogiannis M, Baziaka F, Giamarellos-Bourboulis EJ: Compartmentalization of lipid peroxidation in sepsis by multidrug-resistant gram-negative bacteria: experimental and clinical evidence. *Crit Care* 2013, 17:R6.
154. Fläring UB, Rooyackers OE, Hebert C, Bratel T, Hammarqvist F, Wernerman J. Temporal changes in whole-blood and plasma glutathione in ICU patients with multiple organ failure. *Inten Care Med* 2005; 31: 1072-1078.
155. Karapetsa M, Pitsika M, Goutzourelas N, Stagos D, Becker AT, Zakyntinos E. Oxidative status in ICU patients with septic shock. *Food and Chemical Toxicology* 2013; 61: 106-111.
156. Torres T, Pérez H. Depresión miocárdica en la sepsis grave. Valoración incruenta de la función cardíaca. En: Torradella de Reynoso. *Sepsis grave*. Barcelona, 1ª edición, Ediciones Experiencia, 2002; 67-77.
157. Samra ZQ, Sana A, Bano S, Farooq M, Dar N, Athar MA. Immunobiochemical analysis of paraoxonase1 (anti-oxidant), xanthine oxidase (oxidant) enzymes and lipid profile of cardiac disease patients in Lahore metropolitan Pakistan. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2010; 24: 348-356.
158. Prasad K, Kalra J, Bharadway L. Cardiac depressant effects of oxygen free radicals. *Angiology* 1993; 44 (4): 257-270.

159. Vollset SE, refsum H, Tuerdal A, Nygard O, Nordrehaug JE, Tell GS. Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 130-36).
160. Jacques PF, Selhub J, Bostom A, Wilson P, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *New England J Med* 1999; 340 (19): 1449-1454.
161. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollet SE. Plasma homocysteine concentrations and mortality in patients with coronary artery disease. *NEJM* 1997; 337: 320-326).
162. Blum A, Hijazi I, Eizenberg MM, Blum N. Homocysteine (Hcy) follow-up study. *Clin Invest Med* 2007; 30 (1): 21-25.
163. Ventura P, Panini R, Verlato C, Scarpetta G, Salvioli G. Hyperhomocysteinemia and related factors in 600 hospitalized elderly subjects. *Metabolism* 2001; 50: 1466-71.
164. Gori AM, Corsi AM, Fedi S, Gazzini A, Sofi F, Bartali B et al. A proinflammatory state is associated with hyperhomocysteinemia in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 335-41.
165. Otero P, Ginesta V, Caruezo V, Bouzada M, Naveira A, Rey M, Ulloa B, Álvarez –Escudero J. Dispositivos extracorpóreos en el tratamiento de la sepsis: CRRT y ECMO. En: Gilsanz F, Roses R. *Sepsis en el paciente quirúrgico*. Barcelona, 1ª edición, Editorial Glosa, 2004; 315-324.
166. Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, Chertow GM, Mehta RL, Paganini EP, Soroko S, Freedman S, Becker K, Spratt D, Shyr Y, Ikizler A for the PICARD study. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney International* 2004; 65: 1357-1365.

167. Himmelfarb J, McMonagle E, Freedman S, Klenzak J, McMenamin E, Le P, Pupim LB, Ikizler TA and the PICARD group. Oxidative stress is increased in critically ill patients with acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2449-2456.
168. Cole L, Bellomo R, Hart G et al. A phase II randomized, controlled trial of continuous hemofiltration in sepsis. *Crit Care Med* 2002; 30 (1): 100-6).
169. Yekebas EF, Strate T, Zolmajd S, Eisenberger CF, Erbersdobler A, Saalmüller A, Steffani K, Bruschi C, Elsner HA, Engelhardt M, Gillesen A, Meins J, The M, Knoefel WT, Izbicki JR. Impact of different modalities of continuous venovenous hemofiltration on sepsis-induced alterations in experimental pancreatitis. *Kidney International* 2002; 62: 1806-1818.
170. Tiranathanagul K, Jearnsujitwimol O et al. Regional Citrate Anticoagulation Reduces Polymorphonuclear Cell Degranulation in Critically Ill Patients Treated With Continuous Venovenous Hemofiltration. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2011; 15(6):556–564.
171. Oudemans-van S, Kellum JA, Bellomo R. Anticoagulation for continuous renal replacement therapy-heparin or citrate? *Crit Care* 2011; 15: 202.
172. Evenepoel P, Dejagere T et al. Heparin-Coated Polyacrylonitrile Membrane Versus Regional Citrate Anticoagulation: A Prospective Randomized Study of 2 Anticoagulation Strategies in Patients at Risk of Bleeding. *American Journal of Kidney Diseases* 2007; 49 (5): 642-649.
173. Gritters M, Grooteman M, Schoorl M et al. Citrate anticoagulation abolishes degranulation of polymorphonuclear cells and platelets and reduces oxidative stress during haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* (2006) 21: 153–159.

174. Claudio Ronco, Zaccaria Ricci. Renal replacement therapies: physiological review. *Intensive Care Med* (2008) 34:2139–2146.
175. De Vecchi AF, Bamonti F. *Nephrol Dial Trasplant* 2009; 24: 2524-2529.
176. Trimarchi H, Dicugno M, Muryan A, Lombi F, Iturbe L, Raña, MS, Young P, Nau K, Iriarte R, Pomeranz V, Forrester M, Karl A, Alonso M). Pro-calcitonin and inflammation in chronic hemodiálisis. *Medicina* 2013; 73 (5): 411-416.
177. Herget-Rosenthal S, Klein T, Marggraf G, et al. Modulation and source of procalcitonin in reduced renal function and renal replacement therapy. *Scand J Immunol* 2005; 61: 180-186.
178. Carrasco R, Castillo R, Huerta P, Rodrigo R, Castro J, Guerrero J. Estrés oxidativo y sepsis. *Revista Hospital Clínico Universidad de Chile* 2005; 16 (3): 185-193.



## **8. ANEXOS**





## **Anexo 1**

### **Hoja de información al paciente y consentimiento informado**

**“Estudio de los marcadores de severidad en la sepsis grave y shock séptico”**

**Puede que esta hoja de información contenga palabras que usted no entienda. Por favor, pídale al médico o al personal encargado del estudio que le explique cualquier palabra o concepto que usted no entienda con claridad. Antes de dar su consentimiento para la participación de su familiar en este estudio, es importante que lea y comprenda la siguiente información.**

**Nuestro organismo necesita para su correcto funcionamiento que el aporte de oxígeno a los distintos tejidos esté garantizado por los procesos de respiración y circulación normales. Cuando estos se comprometen o dejan de ser suficientes para las necesidades del organismo, se producen alteraciones del funcionamiento de los distintos órganos y vísceras que pueden ser tan peligrosas como para comprometer la vida del paciente.**

**El problema de este proceso radica en que los médicos no disponemos, por el momento, de parámetros fiables que nos permitan la detección precoz de estas situaciones de falta de aporte de oxígeno a los tejidos y cuando se detectan, habitualmente es ya tarde para poner en marcha tratamientos oportunos.**

Determinados procesos presentan un mayor riesgo de producir este tipo de alteraciones en el suministro de oxígeno a los distintos órganos del cuerpo (infecciones graves, intervenciones quirúrgicas de alto riesgo, insuficiencia respiratoria de cualquier tipo, pancreatitis agudas, etc.) y como consecuencia se puede derivar el mal funcionamiento y fracaso de los mismos. Hay indicios de que todo ello puede ser debido a una alteración de la circulación intestinal que favorecería el paso de toxinas desde el interior del intestino a la circulación general, fenómeno de difícil detección.

Dada la situación actual del organismo del paciente ingresado en nuestro servicio, se le propone la extracción de muestras de sangre, que nos ayuden a conocer mejor si las alteraciones debidas a un transporte insuficiente o inadecuado de oxígeno, así como ciertos marcadores bioquímicos pueden detectarse de forma precoz y consecuentemente, poner en marcha las maniobras encaminadas a corregir estos defectos.

La cantidad de sangre extraída para estos análisis no supone un riesgo mayor que los de cualquier otra extracción que se realiza de forma rutinaria.

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y que en cualquier caso su decisión no influirá en modo alguno en la asistencia médica que usted necesite de los médicos o del resto del personal necesario.

**Anexo 2**

**Autorización del paciente o de su familia**

**He leído el texto anterior. Creo que lo entiendo, y me ha sido explicado de forma satisfactoria. Entiendo que los médicos harán lo que en su opinión es mejor para mí familiar por lo que acepto voluntariamente que mi familiar, que actualmente no puede expresar su voluntad al encontrarse bajo los efectos de la sedación necesaria para mantenerlo con un respirador, participe en el estudio.**

**Recibiré una copia firmada de esta hoja de información al paciente y del consentimiento informado.**

**Apruebo el que la información derivada de este caso pueda ser utilizada en publicaciones que resulten de este estudio, sin que se revele mi identidad personal en modo alguno.**

\_\_\_\_\_

—

**Nombre del paciente**

\_\_\_\_\_

—

**Nombre del familiar que firma el consentimiento y parentesco con el paciente**

\_\_\_\_\_

**Firma del familiar**

**Fecha**

**He explicado a los familiares del paciente la naturaleza de este ensayo.  
El Paciente comprende la naturaleza del estudio, los riesgos y los  
beneficios derivados de su participación.**

---

---

**Investigador**

**Fecha**