



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

TESIS DOCTORAL

PROTEÍNAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE
INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS
A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Mónica Crespo Gómez

DIRECTORES:

Federico Vicente Pallardó Calatayud

Manuel Cervera Montes

Carlos Romá Mateo

TUTOR:

Federico Vicente Pallardó Calatayud

PROGRAMA DE DOCTORADO EN FISIOLÓGÍA

VALENCIA, ABRIL 2021

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES
EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL



VNIVERSITAT E VALÈNCIA

TESIS DOCTORAL

PROTEÍNAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE
INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS
A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Mónica Crespo Gómez

DIRECTORES:

Federico Vicente Pallardó Calatayud

Manuel Cervera Montes

Carlos Romá Mateo

Tutor:

Federico Vicente Pallardó Calatayud

PROGRAMA DE DOCTORADO EN FISIOLOGÍA

VALENCIA, ABRIL 2021

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TESIS:

D Federico Vicente Pallardó Calatayud , Catedrático del Dpto. de Fisiología de la Universitat de València,

D Manuel Cervera Montes , Jefe de Servicio Jubilado del Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Universitario Dr Peset de Valencia,

D Carlos Romá Mateo , Profesor Ayudante Doctor del Dpto. de Fisiología de la Universitat de València,

CERTIFICAN:

Que la presente memoria, titulada “Proteínas nucleares y otros mediadores de inflamación en pacientes en shock séptico sometidos a terapias continuas de remplazo renal”, corresponde al trabajo realizado bajo su dirección por D/Dña. Mónica Crespo Gómez, para su presentación como Tesis Doctoral en el Programa de Doctorado en Fisiología de la Universitat de València.

Y para que conste firma/n el presente certificado en Valencia, a 5 de Abril de 2021



Fdo. Federico V. Pallardó Calatayud



Fdo. Manuel Cervera Montes



Fdo. Carlos Romá Mateo

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES
EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

AGRADECIMIENTOS:

A la paciencia de mis hijas, Marta y Noa, que entendieron que estos deberes no se acababan “nunca”. A Eduardo, el pilar de mi vida y base de mi familia, mis proyectos siempre llevan su esfuerzo. Al ejemplo de constancia perseverancia y dedicación que son mis padres, Adela y Ricardo, parecerme a ellos será siempre mi empeño. Y a todos los que se han cruzado en mi camino y han sido de gran ayuda, compañeros de UCI y laboratorio del Hospital Dr Peset de Valencia y departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de Valencia.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

LISTA DE SÍMBOLOS ABREVIATURAS Y SIGLAS:

ADN: ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

AUC ROC: *Area under curve* ROC (área bajo la curva ROC)

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido

BT: Bilirrubina total

BUN: Nitrógeno ureico en sangre

CARS: *Compensatory Antinflammatory Response* (respuesta compensatoria antiinflamatoria)

CCI: Paciente crítico crónico

Cm²: Centímetro cuadrado

Cr: Creatinina

Cut-off: Punto de corte

Da: Daltons

DAMPs: *damage associated molecular patterns* (patrones moleculares asociados a la lesión)

dl: Decilitros

DL: Dislipemia

DM: Diabetes mellitus

DS: Desviación estándar

EA: Enfermedades autoinmunes

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

FC: Frecuencia cardiaca

FRA: Fracaso renal agudo

GCS: *Glasgow Coma Scale*

gr/dl: Gramos por decilitro

h: hora

H: Histona

HCO: *High cut-off*

HF: *High flux*

HMGB1: *High mobility group box 1* (proteínas de alta movilidad del grupo 1)

HSP: *Heat shock protein* (proteínas de choque térmico)

HTA: Hipertensión arterial

IC: Intervalo de confianza

IGFBP-7: *Insulin-like growth factor-binding protein 7*

INR: *International normalized ratio*

IL: Interleukina

IRA: Insuficiencia renal aguda

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

IRC: Insuficiencia renal crónica

qSOFA: *quick SOFA*

KDa: Kilodaltons

KDIGO: *Kidney disease Improving global outcomes*

Ko: Coeficiente de difusión de la membrana

K_{UF}: Coeficiente de ultrafiltración de la membrana

LF: *Low Flux*

lpm: latidos por minuto

l/min: litros por minuto

LOPD: Ley orgánica de protección de datos de carácter personal

μm: micrómetro

μg/kg/min: microgramos por kilo por minuto

μg/ml: microgramos por mililitro

m²: metro cuadrado

MAP: *Mean arterial pressure* (tensión arterial media)

MCO: *Middle Cut-off*

mg/dl: miligramo por decilitro

mi-RNA: micro ARN

ml/kg: mililitro por kilogramo

mmHg: milímetros de mercurio

mm³: milímetros cúbicos

mmol/l: milimoles por litro

MODS: *Multiorganic Dysfunction Syndrome* (Síndrome de disfunción multiorgánica)

MWCO: *Molecular weight cut-off*

MWRO: *Molecular weight retention onset*

ng/ml: nanogramos por mililitro

PAI-1: Inhibidor del activador del plasminógeno-1

NET: *Neutrophil extracellular traps* (trampas extracelulares de neutrófilos)

ng/ml: nanogramo por mililitro

NGAL: *Nneutrophil gelatinase-associated lipocalin*

NO: Óxido nítrico

paCO₂: presión parcial de dióxido de carbono

PAMPs: *Pathogen-associated molecular patterns* (patrones moleculares asociados a patógenos)

PaO₂/FiO₂: Relación de presión arterial de oxígeno por fracción inspirada de oxígeno

PICS: *Persistent inflammation immunosuppression and catabolism state*

PCR: Proteína C reactiva

PCT: Procalcitonina

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

PRR: *Pattern recognition receptor* (receptores de reconocimiento de patrones)

PM: Peso molecular

Q_{UF}: Flujo del ultrafiltrado

ROC: *Receiver operating characteristic*

ROS: Especies reactivas del oxígeno

rpm: respiraciones por minuto

SDRA: Síndrome de distress respiratorio agudo

seg: segundos

SIRS: *Systemic inflammatory response syndrome* (Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica)

SC: *Sieving coefficient* (coeficiente de cribado)

SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment Score*

STREM-1: Receptor de las células mieloides

T^a: Temperatura

T0: Tiempo 0

T1: Tiempo 1

T1pre: Tiempo 1 pre-filtro

T1post: Tiempo 1 post-filtro

TA: Tensión arterial

TAS: Tensión arterial sistólica

TAM: Tensión arterial media

TCRR: Terapia continua de remplazo renal

TGF-B: Factor de crecimiento transformante Beta

TIMP2: *Tissue inhibitor of metalloproteinases 2*

TLR: *Toll like receptor* (receptores tipo Toll)

TMP: *Transmembrane pressure gradient* (presión transmembrana)

TNF α : Factor de necrosis tisular activado

TCRR: Terapia continua de remplazo renal

TRR: Terapia de remplazo renal

TTPA: Tiempo parcial de tromboplastina activado

UCI: Unidad de cuidados intensivos

X^{SD}: Desviación estándar

°C: Grados Celsius

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS:

TABLAS:

TABLA 1. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE SEPSIS.....	14
TABLA 2. ESCALA SOFA DE FRACASO ORGÁNICO.	15
TABLA 3. ESCALA QUICK SOFA.	16
TABLA 4. ESTADIOS DEL FRACASO RENAL AGUDO.	38
TABLA 5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE LOS PACIENTES.	55
TABLA 6. CONFIGURACIÓN INICIAL DE LOS TRATAMIENTOS DE HEMODIÁLISIS CON CITRATO EN EQUIPO MULTIFILTRATE®.	56
TABLA 7. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, COMORBILIDADES Y GRAVEDAD DE LOS PACIENTES AL INGRESO EN LA UCI.....	64
TABLA 8. CARACTERÍSTICAS DE LAS TCRR Y ESTADIO DEL FRACASO RENAL.	66
TABLA 9. COMPARACIÓN DE PARÁMETROS CLÍNICOS Y ESCALA SOFA ENTRE T0 Y T2.....	67
TABLA 10. COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES EN FUNCIÓN DEL CONTROL DE FOCO.	72
TABLA 11. COMPARACIÓN ENTRE BIOMARCADORES CON SEPSIS <24H VS >24H.	73
TABLA 12. CORRELACIONES NO PARAMÉTRICAS MEDIANTE RHO DE SPEARMAN CON SIGNIFICACIÓN CON SIGNIFICACIÓN BILATERAL DE BIOMARCADORES Y PARÁMETROS DE DISFUNCIONES ORGÁNICAS EN T0. 76	76
TABLA 13. CORRELACIONES NO PARAMÉTRICAS MEDIANTE RHO DE SPEARMAN CON SIGNIFICACIÓN BILATERAL DE BIOMARCADORES Y PARÁMETROS DE DISFUNCIONES ORGÁNICAS EN T2.....	76
TABLA 14. CORRELACIONES NO PARAMÉTRICAS MEDIANTE RHO DE SPEARMAN CON SIGNIFICACIÓN BILATERAL DE BIOMARCADORES EN T0.....	78
TABLA 15. CORRELACIONES NO PARAMÉTRICAS MEDIANTE RHO DE SPEARMAN CON SIGNIFICACIÓN BILATERAL DE BIOMARCADORES EN T2.....	78
TABLA 16. COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES EN T0 Y T2 EN FUNCIÓN DE MORTALIDAD EN UCI.	80
TABLA 17. COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES EN T0 Y T2 EN FUNCIÓN DE MORTALIDAD HOSPITALARIA Y A LOS 28 DÍAS.....	80

FIGURAS:

FIGURA 1. ALGORITMO DE MANEJO DIAGNÓSTICO DE LOS PACIENTES CON SEPSIS Y SHOCK SÉPTICO.	17
FIGURA 2. FRECUENCIA DE INGRESO Y TASAS DE MORTALIDAD POR SEPSIS SEVERA 2000-2007.	20
FIGURA 3. MODELO EVOLUTIVO DE LA SEPSIS EN UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS Y POST-UCI	24
FIGURA 4. CINÉTICA DE LAS CONCENTRACIONES EN SANGRE DE PCT, PCR E IL-6 ENTRE OTROS BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN E INFECCIÓN EN LAS PRIMERAS 96H DE LA SEPSIS.	33
FIGURA 5. ORGANIZACIÓN DE LA CROMATINA.	34
FIGURA 6. PRINCIPALES MECANISMOS FÍSICOS EN DIÁLISIS.	41
FIGURA 7. CLASIFICACIÓN ACTUAL DE LAS DIFERENTES MEMBRANAS DE HEMODIÁLISIS. ..	44
FIGURA 8. DESCRIPCIÓN DE LA MÁQUINA ESTÁNDAR DE TCRR.	46
FIGURA 9. MECANISMOS DE HDVVC.	47
FIGURA 10. RELACIÓN ENTRE LA DOSIS ADMINISTRADA DE TRR Y LA SUPERVIVENCIA CON LOS RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS ATN Y RENAL.	51
FIGURA 11. ESQUEMA DEL MECANISMO DIALÍTICO Y DE LA ANTICOAGULACIÓN REGIONAL CON CITRATO CALCIO.	57
FIGURA 12. CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN.	65
FIGURA 13. EVOLUCIÓN DE BIOMARCADORES.	68
FIGURA 14. EVOLUCIÓN DE BIOMARCADORES EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE EVOLUCIÓN DE SEPSIS.	70
FIGURA 15. EVOLUCIÓN DE BIOMARCADORES EN FUNCIÓN DEL CONTROL DE FOCO SÉPTICO.	71
FIGURA 16. RESUMEN DE CORRELACIONES NO PARAMÉTRICAS MEDIANTE RHO DE SPEARMAN.	74
FIGURA 17. CORRELACIONES NO PARAMÉTRICAS MEDIANTE RHO DE SPEARMAN CON SIGNIFICACIÓN BILATERAL ENTRE NUCLEOPROTEÍNAS E INDICADORES DE DAÑO ORGÁNICO.	77
FIGURA 18. CORRELACIONES NO PARAMÉTRICAS MEDIANTE RHO DE SPEARMAN CON SIGNIFICACIÓN BILATERAL DE BIOMARCADORES.	79

ÍNDICE:

1	INTRODUCCIÓN.....	12
1.1	SEPSIS.....	12
1.1.1	<i>EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE SU DEFINICIÓN.....</i>	<i>12</i>
1.1.2	<i>EPIDEMIOLOGÍA.....</i>	<i>18</i>
1.1.3	<i>IMPORTANCIA CLÍNICA.....</i>	<i>21</i>
1.1.4	<i>FISIOPATOLOGÍA.....</i>	<i>22</i>
1.1.5	<i>DIAGNÓSTICO.....</i>	<i>27</i>
1.1.6	<i>FRACASO RENAL AGUDO SÉPTICO.....</i>	<i>36</i>
1.2	TÉCNICAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL.....	40
1.2.1	<i>FUNDAMENTOS DE LA DEPURACIÓN DE MOLÉCULAS.....</i>	<i>40</i>
1.2.2	<i>CARACTERÍSTICAS DE LA MEMBRANA DEL HEMOFILTRO.....</i>	<i>42</i>
1.2.3	<i>DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA.....</i>	<i>45</i>
1.2.4	<i>MOMENTO DE INICIO DE LA TRR EN LA SEPSIS.....</i>	<i>47</i>
1.2.5	<i>DOSIFICACIÓN.....</i>	<i>51</i>
2	HIPÓTESIS.....	53
3	OBJETIVOS.....	53
3.1	OBJETIVO PRIMARIO.....	53
3.2	OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	53
4	MATERIAL Y MÉTODOS.....	54
4.1	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	54
4.2	POBLACION DE ESTUDIO.....	54
4.3	TAMAÑO MUESTRAL.....	54
4.4	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	54
4.5	MATERIAL Y TÉCNICA DE REPLAZO RENAL.....	55
4.5.1	<i>MATERIAL.....</i>	<i>55</i>
4.5.2	<i>TÉCNICA DE DIALIZACIÓN.....</i>	<i>56</i>
4.6	VARIABLES ANALIZADAS.....	58
4.7	ANÁLISIS DE BIOMARCADORES.....	59
4.7.1	<i>EXTRACCIONES Y TIEMPOS.....</i>	<i>59</i>
4.7.2	<i>ANÁLISIS DE PCT.....</i>	<i>60</i>
4.7.3	<i>ANÁLISIS DE PCR.....</i>	<i>60</i>
4.7.4	<i>ANÁLISIS DE IL-6.....</i>	<i>61</i>
4.7.5	<i>ANÁLISIS DE NUCLEOSOMAS.....</i>	<i>61</i>
4.7.6	<i>ANÁLISIS DE HMGB1.....</i>	<i>61</i>

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

4.8	CONSENTIMIENTO INFORMADO	62
4.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	62
5	RESULTADOS.....	64
5.1	CARACTERÍSTICAS DEMÓGRAFICAS, CLÍNICAS Y SCORES DE GRAVEDAD DE LOS PACIENTES	64
5.2	CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN	65
5.3	PARÁMETROS DE LAS TCRR APLICADAS, ESTADIO DEL FRACASO RENAL E INICIO DE LAS TCRR.....	66
5.4	EVOLUCIÓN CLÍNICA DE LOS PACIENTES A LAS 24H	66
5.5	BIOMARCADORES	67
5.5.1	<i>EVOLUCIÓN DE BIOMARCADORES POR SUBGRUPOS.....</i>	<i>69</i>
5.5.2	<i>COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES POR SUBGRUPOS.....</i>	<i>72</i>
5.6	CORRELACIONES ENTRE BIOMARCADORES Y DISFUNCIONES ORGÁNICAS	73
5.6.1	<i>CORRELACIONES ENTRE BIOMARCADORES Y VARIABLES CLÍNICAS.....</i>	<i>75</i>
5.6.2	<i>CORRELACIONES ENTRE BIOMARCADORES.....</i>	<i>77</i>
5.7	MORTALIDAD Y ESTANCIA EN UCI.....	79
6	DISCUSIÓN	82
6.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES Y DE LAS TCRR.....	83
6.2	RESPUESTA CLÍNICA DE LOS PACIENTES Y EVOLUCIÓN DE BIOMARCADORES.....	85
6.3	LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	95
7	CONCLUSIONES.....	96
8	BIBLIOGRAFÍA.....	97
9	TABLAS SUPLEMENTARIAS.....	118

1 INTRODUCCIÓN

1.1 SEPSIS

1.1.1 EVOLUCIÓN HISTÓRICA DE SU DEFINICIÓN

A lo largo de las últimas décadas la definición de sepsis ha sufrido importantes cambios debido a los avances científicos y al mejor conocimiento fisiopatológico de este síndrome clínico.

1.1.1.1 Conferencia de Consenso de American College of Chest Physicians y la Sociedad Americana de Cuidados Intensivos

En 1991 surge el primer intento de estandarización de terminología para definir la sepsis. Con los objetivos de: permitir una detección precoz del proceso séptico a pie de cama, que permita un tratamiento precoz, y crear unas definiciones estandarizadas para futuras investigaciones. Se aceptaban ya entonces las limitaciones de las mismas, sugiriendo futuros estudios para validarlas. La primera parte del documento se centra en la utilización de scores de gravedad para evaluar, describir y estratificar en función del pronóstico a los pacientes sépticos, y en la segunda se establecen recomendaciones sobre el uso de las terapias más recientes en sepsis del momento.

El término “SIRS” (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica) se propone en aquel momento para describir el proceso inflamatorio sistémico provocado por la infección, pero también por otras etiologías no infecciosas, tales como la traumática, los grandes quemados y las pancreatitis. Para que un paciente presentase SIRS se debían manifestar más de uno de los siguientes signos clínicos, sin limitarse a estos: temperatura corporal superior a 38°C o inferior a 36°C; taquicardia superior a 90 lpm; taquipnea superior a 20 rpm o paCO₂ inferior o igual a 32mmHg; leucocitosis superior a 12000/mm³ o inferior a 4000/mm³ o presencia de más de 10% de formas inmaduras en sangre (descartando leucopenia o neutropenia inducidas farmacológicamente como en la quimioterapia). La sepsis se definía como la respuesta inflamatoria sistémica provocada por una infección confirmada y se establecían 3 niveles de gravedad: sepsis, sepsis grave y shock séptico. Se eliminó el término septicemia, hasta entonces utilizado, para definir la presencia de microorganismos en sangre, puesto que daba lugar a confusión, y se mantuvieron los términos de bacteriemia para definir la presencia de bacterias en sangre, de viremia para los virus, fungemia para los hongos y parasitemia para parásitos, vigentes hoy en día.

Se propuso el término sepsis grave, abandonado en la actualidad desde el 2016 (1), para definir la sepsis que asociaba disfunción orgánica, marcadores de hipoperfusión (acidosis láctica, oliguria, alteraciones neurológicas) o hipotensión asociada (TAS inferior a 90 mmHg o reducción de 40 mmHg de la basal) en ausencia de otras causas de hipotensión.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

El shock séptico se definió en 1991 como una sepsis con hipotensión arterial mantenida pese a una adecuada reanimación con fluidos, con signos de hipoperfusión y disfunción orgánica, que requiere del inicio de fármacos inotrópicos y/o vasopresores. Se caracterizaron también las distintas disfunciones orgánicas, como resultado del fracaso de los órganos para mantener la homeostasis y se englobaron en el conocido “síndrome de disfunción multiorgánica o MODS” (*Multiple Organ Dysfunction Syndrome*), que podía ser primario (directamente relacionado con la causa infecciosa) o secundario (debido a la excesiva respuesta inflamatoria del huésped) (2).

1.1.1.2 International Sepsis Definitions Conference

Una década después, en 2001, tiene lugar la *International Sepsis Definitions Conference*, con colaboración de las sociedades científicas europeas y americanas. Consideraron entonces que la definición anterior de sepsis creaba dudas, que era necesaria una revisión de las definiciones acordes con los avances en el conocimiento del síndrome y con la incorporación de nuevos biomarcadores.

El término usado durante la década anterior, SIRS, se le consideró demasiado sensible y poco específico para diagnosticar la sepsis, por lo que se le añadieron más criterios clínicos y analíticos al SIRS previo para la definición de sepsis. Es en esta conferencia donde aparecen por primera vez biomarcadores entre los criterios diagnósticos: proteína C reactiva y procalcitonina (3).

No obstante, la sepsis se siguió estratificando en los 3 niveles de gravedad anteriores: sepsis, sepsis grave y shock séptico.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Infección^a, documentada o sospechada y alguno de los siguientes^b

Criterios generales

Fiebre (temperatura central >38,3°C)

Hipotermia (temperatura central < 36°C)

Frecuencia cardíaca > 90 lpm o > 2^{DS} del valor normal para su edad

Taquipnea

Alteración del nivel de conciencia

Balace hídrico positivo (> 20 ml/kg en 24h)

Hiperglucemia (glucemia plasmática > 120 mg/dl) en ausencia de diabetes mellitus

Criterios de inflamación

Leucocitosis > 12000 mm³ o leucopenia < 4000 mm³

Presencia > 10% de formas inmaduras de leucocitos

Proteína C reactiva > 2^{SD}

Procalcitonina > 2^{SD}

Criterios hemodinámicos

Hipotensión arterial (TAS < 90 mmHg o TAM < 70 o TAS que desciende > 40 mmHg en adultos o < 2^{SD} para su edad.

Saturación venosa mixta > 70%

Índice cardíaco > 3,5 L/min

Criterios de disfunción orgánica

Hipoxemia arterial (PaO₂/FIO₂ < 300)

Oliguria aguda (diuresis horaria < 0,5ml/kg en 2h mínimo)

Aumento de creatinina > 0,5 mg/dl

Alteraciones de la coagulación (INR > 1,5 o TTPA > 60 seg)

Ileo

Trombocitopenia < 100 10⁹

Bilirrubina total > 4mg/dl

Criterios de hipoperfusión tisular

Acidosis láctica > 1 mmol/L

Disminución del relleno capilar

Tabla 1. Criterios diagnósticos de sepsis.

Adaptado de Levy et al 2003 (3). Se exponen los diferentes criterios propuestos, tanto clínicos como analíticos, con los umbrales requeridos, con el fin de ayudar al clínico a identificar a pie de cama el paciente potencialmente séptico. ^a la infección se define como el proceso patológico provocado por un microorganismo ^b la saturación venosa mixta > 70 % es normal en niños.

El término sepsis grave propuesto en 1991 se mantuvo, refiriéndose a aquella sepsis que asocia disfunción orgánica. Y para definir y clasificar la disfunción orgánica sugirieron utilizar la escala Marshall (4) o la escala “SOFA” (Sequential Organ Failure Assessment Score) (5) que es la clasificación de fracasos orgánicos más usada en la práctica clínica actual y que tiene en cuenta 6 órganos: sistema nervioso central, cardiovascular, respiratorio, hepático, renal y coagulación (Tabla 2).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Puntuación	0	1	2	3	4
Respiratorio PaO ₂ /FiO ₂ mmHg	>400	<400	<300	<200	<100
Coagulación Plaquetas.10 ³ /uL	>150	<150	<100	<50	<20
Hepático Bilirrubina mg/dl	<1,2	1,2-1,9	2-5,9	6-11,9	>12
Cardiovascular Hipotensión	No hipotensión	TAM < 70 mmHg	Dopamina < 5 µg/kg/min	Dopamina > 5, Noradrenalina < 0,1 o adrenalina < 0,1	Dopamina >15 µg/kg/min Noradrenalina > 0,1 µg/kg/min
Sistema Nervioso Central Escala de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal Creatinina mg/dl o débito urinario ml/día	<1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9 o <500	>5 o <200

Tabla 2. Escala SOFA de fracaso orgánico.

Adaptado de Ferreira et al 2001 (5). Se expone la clasificación SOFA, con la puntuación para cada uno de los sistemas evaluados, con los umbrales numéricos. La puntuación total es la suma de cada puntuación por órgano, con valores totales posibles entre 0 y 24 puntos.

En 2001 los criterios diagnósticos de shock séptico se mantienen como en 1991: fracaso agudo hemodinámico con hipotensión arterial persistente no explicado por otras causas, determinado por TAS < 90 mmHg, TAM < 60 o reducción > 40 mmHg con respecto a su valor basal, que no responde a reanimación adecuada con volumen.

1.1.1.3 Tercera conferencia internacional de consenso de sepsis y shock séptico (Sepsis-3)

Finalmente, hay que esperar hasta el año 2016 para que aparezcan las definiciones vigentes en la actualidad, en la tercera conferencia internacional de consenso de la *European Society of Intensive Care Medicine and the Society of critical Care Medicine*. Se consideró necesario reevaluar las definiciones anteriores como consecuencia de los cambios en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis, de los avances en el tratamiento y de los estudios epidemiológicos (1).

Se reconoció la ausencia de test diagnóstico *gold standard* para la sepsis, a la que se considera un síndrome clínico en lugar de una enfermedad específica.

La sepsis es una disfunción orgánica, potencialmente mortal, causada por una respuesta descontrolada del huésped a la infección. Se reconoce que factores endógenos pueden amplificarla, y explicar su heterogeneidad clínica y biológica, haciendo énfasis en que el desarrollo futuro de las ciencias ómicas (transcriptómica, metabolómica y proteómica) podrán caracterizar mejor los subgrupos específicos de la población afectada (1).

El término SIRS, usado desde 1991 para caracterizar la respuesta inflamatoria del organismo, al que se le incorporaron nuevos criterios en la conferencia del 2001 para caracterizar la sepsis, se le considera en 2016 poco válido para describir un proceso en el que no solo está involucrada una respuesta inflamatoria, sino también antiinflamatoria concomitante, con distintas alteraciones orgánicas. Y aunque consideran que el SIRS no expresa una respuesta descontrolada ni potencialmente mortal de la sepsis, instan a continuar usándolo para el screening de los procesos infecciosos, y a no abandonarlo en la práctica clínica. (1) Sin embargo, en su lugar, para identificar precozmente al paciente potencialmente séptico proponen una escala nueva, “quick SOFA”, de fácil aplicación a pie de cama, compuesta por 3 ítems (Tabla 3).

Frecuencia respiratoria > 22rpm Estado mental alterado Tensión arterial sistólica 100 mmHg
--

Tabla 3. Escala quick SOFA.

Adaptado de Singer et al 2016 (1) Se considera quick SOFA positiva si 2 de los 3 ítems se cumplen.

Al paciente con quick SOFA positivo se le debe realizar una valoración clínica de posibles disfunciones orgánicas mediante la escala SOFA; se considera que un aumento de 2 puntos pronostica una mortalidad hospitalaria de más del 10% (6), teniendo en cuenta que cuanto más alto es el valor de la escala SOFA, más riesgo de mortalidad existe (7). La sepsis queda definida como el aumento de 2 o más puntos en la escala SOFA. El término sepsis grave, hasta entonces usado, desaparece, por considerarse “redundante y superfluo”, quedando solo 2 niveles de

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

gravedad de los 3 anteriores del síndrome: sepsis y shock séptico. El shock séptico se define como la sepsis que requiere apoyo inotrópico/vasopresor para mantener TAM > 65 mmHg y que además asocia acidosis láctica > 2mmol/L pese a una correcta reanimación hemodinámica inicial. Así, en la evaluación de los criterios clínicos utilizados para esta nueva definición, el valor predictivo para mortalidad hospitalaria fue superior para la escala SOFA que para los criterios SIRS en los pacientes ingresados en cuidados intensivos, igualando valor predictivo para el resto de pacientes (6).

Con estas nuevas definiciones el diagrama de flujo para el diagnóstico inicial de la sepsis sería:

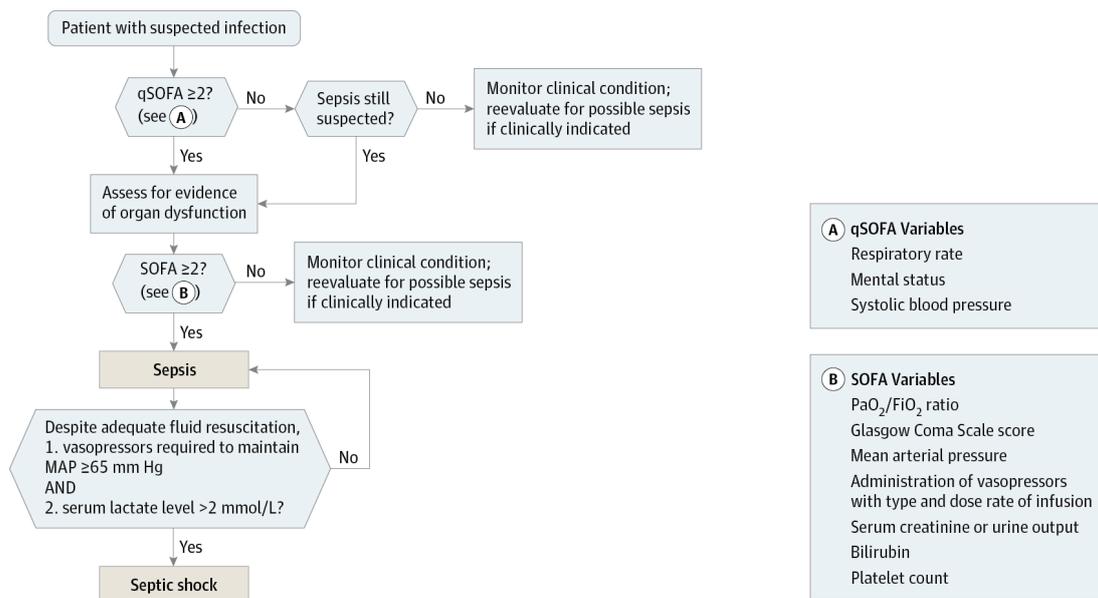


Figura 1. Algoritmo de manejo diagnóstico de los pacientes con sepsis y shock séptico.

Extraído de Singer et al (1). Al paciente con sospecha de infección y qSOFA positiva se le valora la disfunción orgánica mediante la escala SOFA, si ésta aumenta en 2 puntos se le diagnostica de sepsis. Si la sepsis presenta TAM ≤ 65mmHg a pesar de adecuada resucitación con fluidos y lactato sérico > 2mmol/L se diagnostica de shock séptico. Se debe suponer que la puntuación inicial SOFA es cero, a menos que se sepa que el paciente tiene una disfunción orgánica preexistente (aguda o crónica) antes del inicio de la infección. qSOFA: quick SOFA; MAP: presión arterial media

1.1.2 EPIDEMIOLOGÍA

Para interpretar los datos epidemiológicos relacionados con la sepsis se debe tener en cuenta que los países con escaso desarrollo carecen de estudios epidemiológicos y que los datos de los que disponemos de otros países nos los proporcionan estudios en su mayoría retrospectivos.

1.1.2.1 Prevalencia e incidencia

A lo largo de los años la prevalencia e incidencia varía en función de los criterios diagnósticos utilizados de sepsis, del periodo y de la población estudiada, pero el punto en común de las más importantes publicaciones revisadas es que cada año la incidencia de la sepsis aumenta.

En Estados Unidos la prevalencia de sepsis entre los años 1979 y 2000, era de 10.319.418 casos de sepsis, con un incremento anual de la incidencia de sepsis del 8,7%, pasando de 164.000 casos (82,7 por 100.000 habitantes) a casi 660.000 casos (240,4 por 100.000 habitantes) en el periodo estudiado (8).

En un estudio de cohortes retrospectivo llevado a cabo en Estados Unidos entre los años 2003 y 2009 se identificaron 53,9 millones de hospitalizaciones por infección en adultos, destacando que la incidencia de hospitalizaciones por sepsis se incrementó en un 49% en el intervalo de tiempo analizado (9).

En los servicios de urgencias de Estados Unidos, según datos recogidos en los departamentos de emergencias entre 2001 y 2004, la sepsis grave motivó mas de 50.000 visitas anualmente. (10)

A nivel mundial, en el año 2015, un metanálisis centrado en la incidencia de sepsis hospitalaria o sepsis severa, puso de manifiesto que hay 31,5 millones de casos de sepsis al año, con 5,3 millones de muertes (11).

A nivel nacional las tendencias anteriores se confirman. En un estudio retrospectivo multicéntrico nacional del año 2008 al 2017, sobre 288.211 pacientes ingresados, destaca un aumento del 2,7% de la incidencia hospitalaria en el periodo estudiado, con una tasa de incidencia de sepsis de 5,7 por 10.000 personas en el año 2017. La edad media se sitúa en 73 años, con 53% de pacientes de sexo masculino. Por niveles de gravedad objetivan que un 51% de los ingresos presentan sepsis sin disfunción orgánica, un 21,5% sepsis con disfunción orgánica y un 27,3% de los pacientes presentan shock séptico. La tasa de letalidad analizada es del 23,2 % en general, que asciende a 42,9 % para los pacientes con shock séptico (12).

En conclusión, cada año se diagnostican más casos de sepsis, y estos ingresos pueden llegar a suponer el 50% del total de ingresos en unidades de cuidados intensivos (13).

1.1.2.2 Etiología

En las unidades de cuidados intensivos la sepsis tiene como foco más frecuente el respiratorio, seguido del abdominal y de las bacteriemias. En un estudio epidemiológico de 14.000 pacientes críticos con sepsis grave y cultivos positivos, hecho en 75 países, los gérmenes aislados fueron Gram-negativos en 62%, Gram-positivos en 47% y hongos en 19% (13). Entre los gérmenes más frecuentes Gram-negativos se encuentran *Escherichia coli* y *enterobacter spp*, y entre los Gram-positivos *Staphylococcus aureus* y *epidermidis*. Los hongos más frecuentemente implicados son *candida spp* en primer lugar seguido de *aspergillus*. La etiología puede variar en función de la localización geográfica; así, se ha detectado más presencia de gérmenes multiresistentes como *acinetobacter spp* en regiones asiáticas en comparación con Norteamérica, relacionado con las diferentes medidas de control de la infección intrahospitalaria aplicadas (14) (15) (16).

1.1.2.3 Factores de riesgo

Los factores de riesgo dependen de la predisposición del paciente a la infección y del riesgo de disfunción orgánica si la infección se desarrolla. Las patologías crónicas previas del paciente tales como síndrome de inmunodeficiencia adquirido, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, neoplasias, así como el tratamiento inmunosupresor, predisponen a la infección. Los pacientes de edad avanzada, de sexo masculino y de raza negra también han sido grupos donde en diferentes estudios la incidencia de sepsis ha resultado ser superior (17) (18).

1.1.2.4 Mortalidad

La sepsis y el shock séptico son una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en pacientes críticos. (19) Más de 30 millones de personas se diagnostican de sepsis cada año a nivel mundial, lo que puede llegar a suponer 6 millones de muertes al año. Los datos recogidos en la *Surviving Sepsis Campaign* del 2012 objetivaron tasas de mortalidad del 41% en Europa y del 28,3 % en Estados Unidos, diferencia que al ajustar por gravedad de la enfermedad desaparece (20). Varios estudios en diferentes continentes con amplias muestras de pacientes analizados, señalan el aumento de ingresos hospitalarios por sepsis y de forma inversa el descenso en la mortalidad (19,21,22).

En un estudio retrospectivo observacional de población australiana y de Nueva Zelanda, con 101.064 pacientes, se constató una reducción de la tasa de mortalidad del 16,7% (95% IC, 14,8%-18,6%) desde el año 2000 al 2012, con un descenso de 1,3% anual y una reducción del riesgo relativo de morir por sepsis de 47,5% (95% IC, 44.1%-50.8%) (19).

En el estudio de Kumar et al. realizado entre los años 2000 y 2007 en la población estadounidense, se observó un aumento del número de hospitalizaciones por sepsis grave, teniendo en cuenta las

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

definiciones vigentes en ese momento (3), de 143 por 100.000 personas en el año 2000 a 343 por 100.000 personas en 2007, junto con un descenso en la tasa de mortalidad del 39% al 27%, después de ajustar por demografía (Figura 2), número de fallos orgánicos y comorbilidades (21).

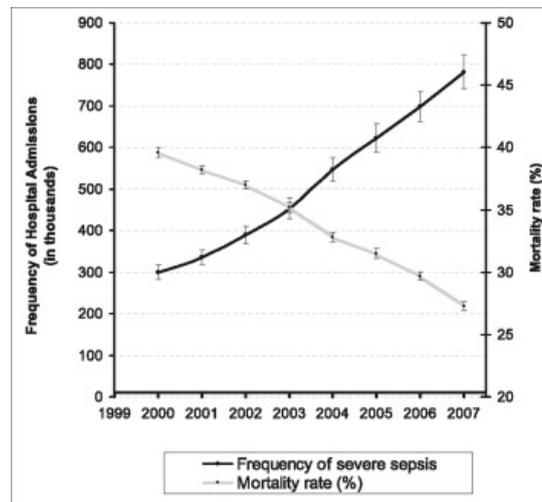


Figura 2. Frecuencia de ingreso y tasas de mortalidad por sepsis severa 2000-2007.

Extraído de Kumar et al CHEST 2011 (21) Evolución desde el año 1999 a 2007 de la mortalidad (en %) en el eje derecho y de las hospitalizaciones por sepsis severa en el eje izquierdo (frecuencia de hospitalizaciones por 100.000 personas).

De igual manera, un estudio prospectivo entre 2008-2013 en un hospital terciario español, destacó una reducción de mortalidad de los pacientes sépticos a lo largo de los años (22).

En cualquier caso, la infección se asocia de manera independiente con un mayor riesgo de muerte hospitalaria: la tasa de mortalidad de los pacientes críticos infectados es más del doble que la de los pacientes no infectados (13). Y cuanto más grave es el proceso séptico más mortalidad asocian los pacientes: datos nacionales de la última década extraídos del estudio retrospectivo multicéntrico nacional de Darbá et al, establecen una tasa de letalidad global del 23,2 %, que asciende a 35% para la sepsis con disfunción orgánica y a 42,9% para el shock séptico (12).

Los factores de riesgo asociados a la mortalidad descritos en la literatura son: la edad superior a 85 años, la existencia de comorbilidades, la presencia de shock, la patología médica sobre la quirúrgica, el score Apache II superior a 25 y el número de disfunciones orgánicas asociadas, por sí solo la mortalidad del shock séptico oscila entre 20-30% (19) (23).

En las guías de la Campaña Sobrevivir a la sepsis (23) se recogen las últimas recomendaciones para el diagnóstico y manejo precoz de la sepsis. El cumplimiento de estas guías se ha asociado con descenso en la mortalidad, especialmente: la reanimación inicial guiada por objetivos, la antibioterapia precoz en las 3 primeras horas y el uso de fármacos vasopresores como la noradrenalina. De hecho, estudios recientes sugieren que el riesgo relativo de muerte por sepsis

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

o shock séptico puede aumentar entre 4 y 8% por cada hora de retraso en la administración de antibióticos efectivos (24). Por lo tanto, el diagnóstico precoz de la sepsis es crucial y su manejo precoz reduce considerablemente la morbilidad y mortalidad asociada (23). El diagnóstico de la sepsis se tratará en un apartado posterior.

1.1.3 IMPORTANCIA CLÍNICA

La sepsis y el shock séptico son unas de las patologías más frecuentes y graves en las unidades de cuidados intensivos (25) y su prevalencia aumenta a lo largo de los años, mientras que la mortalidad desciende (19), con lo cual la supervivencia de la sepsis es cada vez mayor. La mortalidad en las fases más iniciales de la sepsis está relacionada con la fase proinflamatoria debida a la agresión directa del patógeno, pero la mortalidad en fases más avanzadas se relaciona con la desregulación de la respuesta inmune y la inmunodepresión que pueden padecer los enfermos, por la aparición de infecciones secundarias y fallos orgánicos (26–28) (Ver figura 2). Los supervivientes de la sepsis pueden tener también alteraciones funcionales y neurocognitivas a largo plazo que también condicionan el aumento de la mortalidad y consecuencias en pérdida de años de vida activa, dependencia con incapacidad para bañarse o vestirse, problemas de salud mental, con los consiguientes costes económicos (29,30). Incluso se ha descrito que a largo plazo los pacientes pueden desarrollar un estado de inmunodepresión inflamación y catabolismo mantenido, denominado PICS (*persistent inflammation immunosuppression and catabolism state*) que es el origen de un nuevo tipo de paciente en las unidades de críticos, el paciente “crítico crónico”, con largas estancias en la UCI, gran morbilidad intercurrente y alta mortalidad a medio y largo plazo, asociada, además a un importante coste socioeconómico y familiar (31).

Teniendo en cuenta la prevalencia de la sepsis, los estudios de costes han mostrado en la Comunidad de Madrid en el año 2008, un coste anual directo de la atención a la sepsis grave, que ascendía a 70 millones de euros (32).

En consecuencia, el diagnóstico y tratamiento precoz de la sepsis es vital y define la evolución de estos pacientes (23). Para lograr ese diagnóstico con una estratificación pronóstica adecuada en etapas tempranas, el clínico debe tener un alto nivel de sospecha, realizar escalas de gravedad rápidas a pie de cama, como el “quick Sofa” (1) y disponer de biomarcadores fiables que identifiquen el proceso en su fase inicial, en la que el tratamiento y la reanimación implementadas son determinantes. Pero también es necesario entender la heterogeneidad de la enfermedad y definir e identificar los subtipos de la misma para poder personalizar los tratamientos lo más posible (33).

1.1.4 FISIOPATOLOGÍA

La complejidad de la sepsis viene determinada por la interacción que se produce entre el patógeno y el huésped y por la pérdida del equilibrio entre los mecanismos inflamatorios y antiinflamatorios propios del sistema inmune que pueden llegar a causar múltiples disfunciones orgánicas: síndrome de distress respiratorio, fracaso cardiovascular, alteración hepática, disfunción miocárdica, fracaso renal y alteraciones de la coagulación (34).

- **Respuesta inflamatoria sistémica:**

La respuesta inicial del huésped a la entrada del agente infeccioso es la activación de las células propias de la inmunidad innata: macrófagos, monocitos neutrófilos y células *natural killers* (35). Estas células reconocen estructuras moleculares producidas por los patógenos, PAMPs (patrones moleculares asociados a patógenos) que son expresados por los distintos microorganismos: bacterias gram-negativas, gram-positivas, hongos, parásitos y virus. Algunos de los componentes microbianos que actúan como PAMPs son: el lipopolisacárido de la membrana de las bacterias gram-negativas, lipoproteínas y peptidoglicanos de bacterias gram-positivas, flagelinas, mananos en el caso de los hongos, ARN y ADN de virus(36). Pero el sistema inmunitario innato también reconoce DAMPs (patrones moleculares asociados a la lesión), que son moléculas endógenas liberadas por células dañadas, también llamadas alarminas (37). Se han descrito multitud de moléculas endógenas que funcionan como DAMPs (38) (39): Una de ellas es la proteína de alta movilidad del grupo 1 (HMGB1), proteína nuclear no cromosómica que es liberada por las células que mueren de forma no programada (37)(40); Las proteínas S-100 o calgranulinas, que son un grupo de más de 20 proteínas expresadas por fagocitos y secretadas en sitios de inflamación (41); Las proteínas de choque térmico o HSP (Heat Shock Proteins) (42); ADN circulante mitocondrial (43,44); ARN extracelular (45–47); Proteínas nucleares tipo histonas (48–52).

Esta vía de activación del sistema inmunitario mediante DAMPs no solo se produce en la sepsis, si no en multitud de enfermedades sistémicas, como la artritis (53), la arteriosclerosis, la diabetes y las enfermedades neoplásicas, entre otras (54).

Tanto las PAMPs como las DAMPs se unen a receptores de reconocimiento de patrones (PRR) presentes en la membrana de macrófagos, neutrófilos y células dendríticas. Existen varios tipos de PRR: tipo toll o Toll-like receptors (TLR), tipo NOD (NLR), de lectinas tipo C (CLR), tipo RIG-1(RLR); y también existen PRR intracelulares (55).

En esta fase inicial se inicia la amplificación de la respuesta inflamatoria: activación de señales intracelulares que inician la transcripción de genes inflamatorios y liberación TNF α . Entre las funciones más importantes del TNF α destacan (56): Estimular la síntesis de IL-1 IL-6 e IL-8, leucotrienos, tromboxano A2 y prostaglandinas; Estimular la producción y activación de monocitos y polimorfonucleares; Activar el sistema del complemento y la cascada de la

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

coagulación; Estimular la síntesis hepática de proteínas de fase aguda, el catabolismo proteico y la gluconeogénesis.

Otro proceso implicado en la eliminación del microorganismo se realiza mediante las NET (*neutrophil extracellular traps*-trampas extracelulares de neutrófilos), que son estructuras de fibras de cromatina con péptidos antimicrobianos e histonas expulsadas por los neutrófilos, en un proceso llamado “Netosis” (57)(58). Las NET previenen la diseminación de la infección, atrapando microorganismos y facilitando su muerte mediante las proteínas antimicrobianas y los fagocitos. Sin embargo, la producción inadecuada de NET se ha relacionado con inflamación y formación de trombos. Esto puede ocurrir cuando las NET están sobreproducidas o cuando faltan mecanismos para destruir las NET, como DNasas. Las NET tienen pues un doble rol en la infección, en etapas iniciales funcionan como bactericidas, y en etapas más tardías pueden causar daño inflamatorio en el pulmón (59) o en el hígado (57).

Tanto neutrófilos como macrófagos producen especies reactivas de nitrógeno y especies reactivas de oxígeno (ROS), además de citoquinas, que amplifican la respuesta inmune. Las ROS son altamente reactivas, oxidantes y tóxicas, son utilizadas por los fagocitos para combatir microorganismos, pero también causan daño tisular y celular (60).

La producción de óxido nítrico a partir de la L-arginina por la actividad de las NO sintetasas también es importante para erradicar microorganismos, pero en exceso es causante de vasodilatación, hipotensión arterial y shock distributivo. El óxido nítrico y el O₂ reaccionan espontáneamente y forman el anión ONOO- peroxinitrito tóxico, que provoca peroxidación lipídica, nitración de residuos de tirosina, oxidación, rotura de ADN y respuestas citotóxicas y proinflamatorias (60).

Las interleukinas también colaboran en el daño endotelial, que una vez lesionado puede activar la coagulación a través del factor tisular, generando fuga endotelial con extravasación de neutrófilos y mediadores inflamatorios al espacio extravascular (61).

- **Mecanismos anti-inflamatorios e inmunosupresión:**

El sistema inmune posee mecanismos humorales celulares y neurales que atenúan parcialmente los efectos perjudiciales de la respuesta proinflamatoria, es la llamada respuesta compensatoria “CARS” (Compensatory Antinflammatory Response) (62). El linfocito T CD4, inicia la diferenciación de otros subtipos de linfocitos, que inhiben la transcripción de genes inflamatorios, produciéndose citoquinas como la IL-10 con funciones antiinflamatorias (regulación negativa del TNF, liberación de factor de crecimiento transformante beta TGF-β, inhibición de células proinflamatorias) (56). Los niveles de linfocitos circulantes disminuyen, las células T, B, CD-4, CD-8 y células dendríticas, las cuales disminuyen mediante mecanismos de apoptosis (63,64). También se han descrito mecanismos neurales a través del nervio vago que inhiben la inflamación

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

a través de un llamado “reflejo neuroinflamatorio” que mediante la liberación de acetilcolina, que actúa sobre macrófagos, inhibe la liberación de citoquinas proinflamatorias (65). Esta respuesta antiinflamatoria se solapa con la respuesta proinflamatoria, y es inicialmente fisiológica, pero puede tener consecuencias deletéreas para el organismo si se prolonga en el tiempo. Podría dar lugar a una situación de inmunoparálisis por agotamiento del sistema inmune (28,66) hasta llegar a comprometer la vida del paciente por la aparición de infecciones secundarias (67) (68). Los pacientes que fallecen en situación de shock séptico y fracaso multiorgánico presentan cambios celulares y bioquímicos compatibles con inmunosupresión en comparación con pacientes que fallecen por otras etiologías (27). En concreto se han detectado niveles más elevados de IL-10 y del cociente IL-10/TNF α , en los pacientes críticos sépticos que fallecen con respecto a los fallecidos por otras causas (69). También se ha objetivado predominancia de ciertos tipos de linfocitos sobre otros (CDT H2 sobre CDT H1) en esta fase de inmunosupresión, con descenso del número de monocitos y neutrófilos circulantes (27). Incluso la linfopenia persistente en el día 4 tras el diagnóstico de la sepsis ha demostrado capacidad predictora de mortalidad a corto y largo plazo y podría ser biomarcador de la inmunodepresión asociada a la sepsis (70). A largo plazo, los pacientes críticos que sobreviven a la sepsis, pueden presentar un síndrome persistente de inflamación-inmunosupresión y catabolismo aumentado, llamado PICS (*persistent inflammation-immunosuppression and catabolism state*) que podría ser la causa de la morbilidad y mortalidad a largo plazo de estos pacientes. El PICS se caracteriza por estancias en la UCI superiores a 14 días (pacientes llamados críticos crónicos), PCR > 50 mcg/dl, Proteína fijadora de retinol < 1mg/dl, linfocitos totales < 0.80.10⁹, albúmina <3 gr/dl, índice creatinina/altura <80%, pérdida de peso >10% o índice de masa corporal <18% durante hospitalización (31).

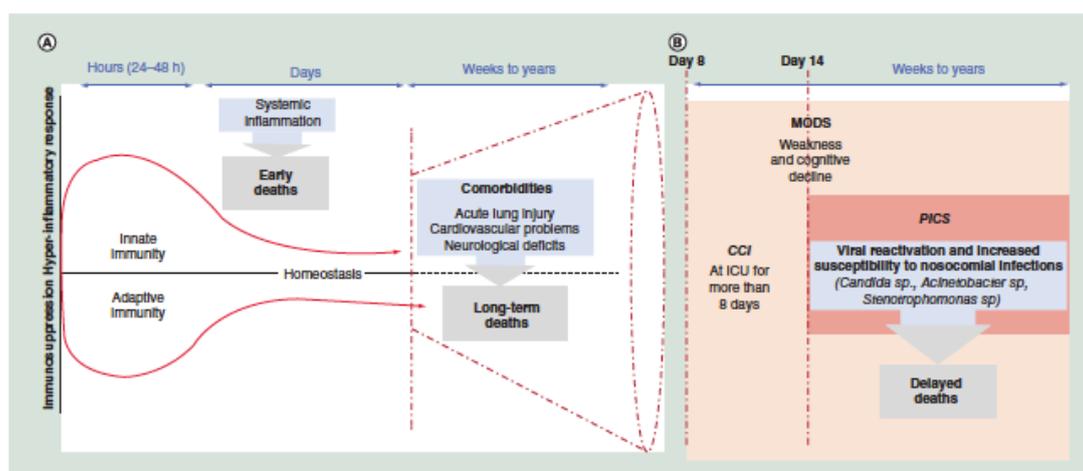


Figura 3. Modelo evolutivo de la sepsis en unidad de cuidados intensivos y post-UCI .

Extraído de Beltrán et al (71): Se muestra un modelo que sintetiza la complejidad de la enfermedad (26,71,72) y en el que concretan varias etapas: una inicial donde la hiperinflamación puede causar la muerte del paciente, y una tardía y prolongada con disfunción persistente de uno o varios órganos, que puede

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

abocar al paciente crítico crónico (CCI) a presentar el síndrome PICS, causante de una alta morbi-mortalidad a largo plazo.

- **Alteración de la coagulación:**

La respuesta inflamatoria daña las células endoteliales, que liberan factor tisular, activando la cascada de la coagulación a través de la vía extrínseca, produciéndose finalmente trombina y activación de plaquetas. Como consecuencia, se forman microtrombos que obstruyen los pequeños vasos sanguíneos generando hipoxia tisular y disfunción de órganos. Los trastornos de la coagulación abarcan desde una simple trombocitopenia hasta una coagulación intravascular diseminada (73).

Además del estado procoagulante hay una reducción de la fibrinólisis. Los factores anticoagulantes naturales (proteína C, antitrombina) disminuyen. Los valores séricos de proteína C en la sepsis disminuyen. La proteína C, además de tener efectos anticoagulantes, actúa inhibiendo TNF IL-1beta e IL-6 y limita la adhesión al endotelio de neutrófilos y monocitos, y por tanto su descenso, motiva mayor actividad inflamatoria y mayor daño endotelial. Además, aumenta la liberación de PAI-1 (inhibidor del activador de plasminógeno) que reduce la actividad fibrinolítica, perpetuando el estado de hipercoagulabilidad (74).

- **Mecanismos epigenéticos:**

Se definen como cambios en la actividad y expresión génica (en la progenie celular o en el individuo) que no están relacionados con cambios en la secuencia de ADN y son lo suficientemente estables como para alterar el potencial transcripcional de una célula (71). En la interacción inicial entre patógeno y huésped los virus y las bacterias pueden inducir cambios epigenéticos en el organismo, que pueden alterar el curso de la sepsis y la evolución a largo plazo del paciente (75) (46).

Los mecanismos epigenéticos descritos en la sepsis son, entre otros, modificaciones post-traduccionales de histonas como metilación y acetilación, metilación de DNA y alteración de la expresión de miRNA (76) (77). Estos mecanismos, que también pueden ser heredados, darían lugar a pérdida del control de la respuesta inmune, con excesiva actividad proinflamatoria (78).

Las histonas son proteínas que condensan y empaquetan el ADN. Sus modificaciones afectan a diversos procesos (transcripción, empaquetado del cromosoma, daño del ADN) (45)(79).

Múltiples cambios moleculares de diferentes histonas han sido relacionados con los procesos sépticos. Estos cambios, o modificaciones postraduccionales de histonas, pueden inducir procesos de apoptosis y netosis (80,81). En concreto, en modelos in vitro de endotoxemia se han objetivado niveles elevados de H3 citrulinada (51), y también se ha relacionado la H3 citrulinada

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

con la unión a microvesículas, la activación de plaquetas y el estado procoagulante de la sepsis (51,82–84). La fosforilación de H2A.X en el residuo 139 de serina, (γ -H2A.X) se ha relacionado con el daño de las células del sistema inmune en la sepsis, y por lo tanto se postula como posible marcador de inmunosupresión (85)(71). La trimetilación en la lisina 4 de la histona H3 y la acetilación en el 27 residuo de lisina de H3 se han asociado en modelos in vitro, con un aumento de la expresión de IL-10, potente citoquina antiinflamatoria que mitiga la actividad proinflamatoria, y sería responsable de la inmunosupresión asociada a la sepsis (71). No solo son los cambios moleculares en las histonas los que están relacionados con la alteración de la respuesta pro-inflamatoria, antiinflamatoria y la actividad procoagulante en la sepsis. También se ha evidenciado que las histonas circulantes en sangre y los nucleosomas participan en el daño endotelial aumentando la permeabilidad vascular (83) y participando en el estado procoagulante de la sepsis (86). Los pacientes sépticos tienen niveles más altos de histonas circulantes que los no sépticos (87) y niveles más elevados de histonas circulantes se correlacionan con mayor gravedad: los pacientes con SOFA scores elevados tienen concentraciones elevadas ($> 75 \mu\text{g/ml}$) (50). Las concentraciones de histonas circulantes son más altas en los pacientes que fallecen que en los que sobreviven (49,50). Las histonas circulantes se han relacionado con distintos fallos orgánicos: daño miocárdico asociado a la sepsis (50), daño pulmonar asociado al trauma (48). Estos mecanismos epigenéticos podrían servir en un futuro como biomarcadores, identificando procesos complejos hasta ahora no visibles por el clínico como los estados de inmunosupresión asociados a la sepsis (71).

- **Disfunción de órganos:**

La respuesta inflamatoria inicial, a través de la activación de las células del sistema inmune provoca liberación de mediadores inflamatorios (56) que activan una cascada de daño celular a través de múltiples mecanismos que no es controlada por los mecanismos antiinflamatorios que se generan de manera simultánea (62). Este desbalance, provoca daño endotelial (61), activación del sistema del complemento, activación plaquetaria y formación de microtrombos que puede desembocar en una coagulación intravascular diseminada (73). A estos mecanismos se añade el daño celular provocado por los procesos de netosis no controlados, en pulmón o hígado (57), y el daño tisular y celular provocado por especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (60).

La disfunción orgánica es la consecuencia de la falta de regulación de todos los mecanismos descritos, siendo los sistemas orgánicos más afectados el pulmón, corazón, hígado, intestino, sistema nervioso central y riñón.

En el sistema cardiovascular, las alteraciones se caracterizan por una pérdida del tono vascular, con disminución de las resistencias vasculares sistémicas, con hipovolemia relativa y una depresión miocárdica con disminución de la función sistólica de ventrículo derecho e izquierdo

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

(88). La disfunción neurológica se presenta como alteración del nivel de conciencia o confusión y desorientación (89), además de otros cuadros encefalopáticos (90). El fallo del sistema de coagulación cursa con trombopenia, aparición de petequias en algunos casos graves, incluso con coagulación intravascular diseminada (91,92). A nivel hepático la sepsis puede cursar con niveles altos de bilirrubina y aumento de enzimas hepáticas, en ausencia de alteración estructural (93). En el sistema respiratorio el daño más característico provocado por la sepsis es el síndrome de distress respiratorio agudo, con hipoxemia en grados variables descrita por la relación PaO_2/FiO_2 y aparición de opacidades bilaterales en la radiografía de tórax consecuencia del daño endotelial de la membrana alveolocapilar con extravasación de líquido a los alveolos a lo que se añade áreas de colapso pulmonar y consecuentemente alteración del balance ventilación/ perfusión (59). La disfunción renal asociada a la sepsis se trata por separado en el punto 1.1.6.

1.1.5 DIAGNÓSTICO

La sepsis es un síndrome clínico para el que no existe test diagnóstico gold standard (1). Para establecer el diagnóstico, tras la tercera conferencia de consenso se requiere un aumento del score SOFA de al menos 2 puntos con respecto a su valor basal (1). La validez predictiva para mortalidad hospitalaria de las escalas propuestas en las últimas definiciones (SOFA y qSOFA) ha sido estudiada en numerosas publicaciones. *Seymour et al* objetivan un área bajo la curva ROC (AUROC) de 0,64 95% IC (0.62-0.66) para SIRS, 0,66 95% IC (0.64-0.68) para qSOFA y 0.74 95% (0,73-0,76) para SOFA, con diferencias entre ellas con p valor < 0,001 a favor de la escala SOFA. Sin embargo, en la población de pacientes no críticos el AUROC del score qSOFA es de 0,81 95% IC (0.80-0.82), para SOFA de 0,79 95% IC (0.78-0.80) y para SIRS de 0,76 95% IC (0.75-0.77) con diferencias significativas (p< 0,001) entre qSOFA vs SIRS y SOFA. Siendo más aceptado a nivel clínico utilizar la escala SOFA para pacientes críticos, y para el resto de pacientes el qSOFA (6). Posteriormente, estas escalas han sido estudiadas en diferentes poblaciones, sobre 180000 pacientes en 182 unidades de cuidados intensivos en Nueva Zelanda y Australia por *Raith et al* (94) y a nivel europeo por *Freund et al* en un estudio prospectivo de 879 pacientes (95), ambas con resultados equiparables al estudio de *Seymour et al*. La evaluación clínica del paciente en la sepsis se debe realizar de manera precoz. Sin embargo, la implementación efectiva de las recomendaciones con respecto al diagnóstico, explicitadas en las guías internacionales de la *Surviving sepsis Campaign* del 2016 es deficiente y los hospitales deben mejorar sus protocolos de detección de la sepsis, ya que tanto la sepsis como el shock séptico se consideran emergencias médicas donde la reanimación inicial precoz es decisiva (23). La primera hora desde la entrada del paciente en el servicio de urgencias se considera crucial, tanto es así que se propone un paquete de cuidados en la 1ª hora de tratamiento (*Hour-1 Surviving Sepsis Campaign Bundle of Care*) que

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

debe incluir todo lo siguiente (96): Medir nivel de lactato, repetir si inicial >2 mmol/l; extraer hemocultivos antes de la administración de antibióticos; administrar antibióticos de amplio espectro; iniciar la administración rápida de 30 ml/kg de cristaloides si existe hipotensión o lactato > 4 mmol/l; iniciar vasopresores si persiste la hipotensión arterial (TAM > 65 mmHg) después de la reanimación con fluidos. Por tanto, es muy importante para el clínico disponer de herramientas diagnósticas fiables y rápidas para realizar un diagnóstico precoz. Sin embargo, todos los biomarcadores, incluidas las escalas de gravedad como el SOFA, precisan de técnicas analíticas (bilirrubina, plaquetas) que condicionan ineludiblemente un retraso en el tratamiento (97).

Para el diagnóstico inicial de la sepsis, la ayuda de los biomarcadores para guiar la terapia con antibióticos y predecir la gravedad del paciente, es fundamental. Un biomarcador es un dato, una herramienta, que puede evaluar objetivamente la evolución de un proceso biológico normal o patogénico, una respuesta a un tratamiento farmacológico o a una intervención terapéutica (98). Los biomarcadores se pueden dividir en 4 grupos en función de su utilidad: diagnósticos, de monitorización, de susceptibilidad y para estratificación (99) (100). Además, el biomarcador debe ser fácil de obtener, de rápida medición, generalizable y de fácil interpretación (101). Numerosos biomarcadores han sido estudiados en la sepsis, algunos de los utilizados en nuestro estudio se detallan a continuación.

- **PCT:**

La procalcitonina, es una proteína de 116 aminoácidos con peso molecular de 13KDa con una vida media de 22 a 35h en suero; es una hormona producida de manera endógena en individuos sanos por las células C tiroideas, precursora de la calcitonina, que se encarga de la homeostasis del calcio y fósforo. En individuos sanos los niveles circulantes de PCT son indetectables (102). Sin embargo, los niveles de PCT en suero están significativamente aumentados 24-36h tras la exposición a bacterias, lipopolisacáridos y a citoquinas proinflamatorias (103). Los valores entre 0,1 y 0,5 ng/ml sugieren la presencia de infección bacteriana, sin claro consenso respecto al umbral requerido (104). Valores de PCT muy elevados se han descrito en infecciones bacterianas producidas por *Escherichia coli* incluyendo las cepas productoras de Betalactamasa de espectro extendido (BLEE), *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus spp*, y las bacterias resistentes a antibióticos parecen aumentar más los niveles de PCT (105). La PCT en la sepsis aumenta rápidamente entre 3 a 6h, con pico entre las 6 y las 13h, y tiene una vida media en sangre de 22 a 36h (106)(107)(102). El mecanismo neuroendocrino de producción de PCT esta mediado por 2 vías diferentes: una vía directa en respuesta a toxinas bacterianas como el lipopolisacárido; otra vía indirecta inducida por citoquinas inflamatorias como IL-1B, IL-6 y TNFa (107). Esta vía indirecta, explica el aumento de PCT en enfermedades no infecciosas como el golpe de calor (108) , los grandes quemados (109), las neumonitis químicas (110), los politraumatismos (111),

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

la cirugía mayor (112) y la cirugía cardiaca (113). A pesar de aumentar en enfermedades no infecciosas, la PCT diferencia mejor entre procesos infecciosos y no infecciosos que otros biomarcadores como la proteína C reactiva y la IL-6 (114). En el metanálisis de Wacker de 2013, donde se analiza la eficacia de la PCT para el diagnóstico de sepsis en pacientes críticos, se describe una sensibilidad media de la PCT de 0,77 (IC 95% 0.72–0.81) una especificidad media de 0,79 (IC 95% 0.74–0.84), con un área bajo la curva ROC de 0,85 (IC 95% 0.81–0.88), con mucha variabilidad de los estudios analizados. Se considera por tanto que la PCT es un biomarcador útil para el diagnóstico precoz de sepsis en pacientes críticos, pero que debe interpretarse junto con el contexto clínico y los datos microbiológicos (115). Teniendo en cuenta los distintos focos de sepsis, la PCT ha sido sobre todo estudiada en infecciones respiratorias, siendo buen predictor de morbi-mortalidad en estos procesos (116) (117); ha demostrado tener buena capacidad diagnóstica para bacteriemias (118) con mejor poder de discriminación que PCR y leucocitosis para diferenciar entre contaminación y bacteriemia real por *Staphylococcus coagulasa negativos* (119); se correlaciona con la gravedad de las infecciones de foco urinario y supera a la PCR en especificidad (120); tiene buena capacidad diagnóstica para endocarditis infecciosa (121); es buen marcador para excluir perforación e isquemia en obstrucciones intestinales (122); es más específica para las infecciones bacterianas que para las víricas (123); se correlaciona con la carga bacteriana (119). Aunque en estudios aislados ha demostrado ser marcador pronóstico del paciente séptico (124,125), en la revisión y metanálisis de *Arora et al* en 2015 queda en evidencia su escasa capacidad predictiva al no diferenciar entre supervivientes y fallecidos por shock séptico (126). Los metanálisis publicados hasta la fecha afirman que la PCT puede servir para diferenciar procesos infecciosos de los no infecciosos, en especial las infecciones respiratorias (127) y sobre todo para realizar retirada de antibióticos (128)(129), lo que resulta en menor mortalidad, menor consumo de antibióticos y menos efectos adversos relacionados con ellos. Además, que la PCT no se reduzca más del 80% al 4º día ha demostrado ser predictor independiente de mortalidad a los 28 días (130). La utilidad de la PCT como guía en el tratamiento antibiótico en la sepsis ha sido examinada en varios estudios prospectivos multicéntricos, destacando *PRORATA Trial* (131) en 2010 y *SAPS trial* en 2016 (132). El ensayo *PRORATA Trial* (131) en 2010 es un estudio multicéntrico prospectivo de grupos aleatorios sobre 630 pacientes críticos con sospecha de infección bacteriana, se comparó el uso de la PCT en la discontinuación del tratamiento antibiótico frente a la práctica clínica siguiendo las guías vigentes. En el algoritmo propuesto, se recomienda iniciar antibióticos con PCT > 0.5 µg/l, y discontinuarlos si el descenso de PCT es mayor del 80% o si la PCT < 0,25 µgr/l. Los resultados mostraron que en el grupo en el que la antibioterapia fue dirigida por los niveles de PCT la mortalidad a los 28 y a los 60 días no difería del grupo control y sin embargo, los días sin antibiótico a los 28 días si aumentaron en el grupo de PCT vs grupo control: 14,3días (SD 9,1) vs 11,6 días (SD 8,2) (p < 0,0001). El ensayo *SAPS trial* en 2016 (132) es multicéntrico prospectivo

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

en 1575 pacientes con grupos similares a los utilizados en el estudio *Prorata* en el que se evalúa la eficacia y seguridad de la PCT para disminuir el tratamiento antibiótico en pacientes críticos, siguiendo el mismo algoritmo de actuación que el estudio previo. Los resultados mostraron un descenso estadísticamente significativo en el consumo de antibióticos, en la duración media de tratamiento antibiótico y en la mortalidad a los 28 días y al año en el grupo de PCT. En 2018, el metanálisis de *Schuetz et al* (133) que incluyó 26 estudios controlados, afirma que el uso de PCT para guiar el tratamiento antibiótico en pacientes con infecciones respiratorias agudas reduce la exposición a antibióticos y los efectos secundarios asociados, mejorando la supervivencia. Postula que la PCT puede ser un biomarcador representativo de la respuesta del huésped a las infecciones bacterianas y útil como complemento de los parámetros clínicos y diagnósticos tradicionales.

Sin embargo en la revisión sistemática de la Cochrane del 2019, donde se analiza la efectividad y seguridad de la PCT en la reducción de mortalidad en adultos con sepsis y shock séptico (134) los resultados no son tan satisfactorios. En él se analizan 10 estudios clínicos con 1215 participantes. Concluyen que no existen diferencias significativas en mortalidad a los 28 días, al alta de UCI ni al alta hospitalaria, aunque si que hallan reducción del tiempo de tratamiento antibiótico en los grupos de tratamiento guiado por PCT. Y aunque la evidencia no apoya el efecto de la PCT sobre las variables comentadas, consideran que los tamaños muestrales han sido insuficientes para los resultados analizados y que hasta la fecha no hay biomarcador mejor en la sepsis, en cuanto a diagnóstico y pronóstico (134). Por último, las recomendaciones de la Campaña Sobrevivir a la sepsis del 2017 (23) están basadas en el valor predictivo negativo del biomarcador, y proponen (recomendación débil y con evidencia de baja calidad) utilizar la PCT para acortar la duración del tratamiento antibiótico y para retirar la antibioterapia empírica en los casos de sospecha inicial de sepsis con evidencia clínica baja de infección.

Por otra parte, a la hora de considerar el valor de la PCT en suero de un paciente crítico es importante considerar su función renal. Con función renal normal, 1/3 de la PCT se elimina vía renal, pero en disfunción renal severa, donde este porcentaje de eliminación se pierde, la vida media de la PCT aumenta considerablemente, hasta 45h. (135) Por otra parte, si el paciente es sometido a técnicas continuas de reemplazo renal, como el peso molecular medio de la PCT es de 13 KDa, esta es fácilmente dializable por mecanismo convectivo con las membranas usadas habitualmente (136,137) (138)(139). Los pacientes con insuficiencia renal crónica pueden tener la PCT elevada de manera basal en respuesta a la inflamación provocada por metabolitos derivados de la uremia; en pacientes con IRC sin diálisis el umbral propuesto para la PCT es de 0,25ng/ml y en pacientes en diálisis aumentan a 0,5ng/ml en la mayoría de los estudios revisados (140). A pesar de este ligero aumento del umbral, sigue siendo un marcador útil para el diagnóstico de infección en IRC y con buena correlación con la gravedad de la sepsis (141).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- **PCR:**

La proteína C reactiva es una proteína de fase aguda, de gran peso molecular, 120 KDa, que se produce en el hígado en respuesta al estímulo de citoquinas inflamatorias como la IL-6 (142).

Esta producción no solo es en respuesta a una agresión infecciosa, si no en otro tipo de agresiones como en quemados, traumatismos (111), enfermedades cardiovasculares (143), cirugías, entre otras (144). En la sepsis su secreción se inicia a las 4-6h de la agresión, con un pico máximo de concentración en sangre a las 36h, considerándose valores patológicos por encima de 8,7 mg/dl (145). Su especificidad para la sepsis ha sido muy cuestionada por las múltiples causas que provocan su elevación en sangre, obteniendo peores datos de sensibilidad y especificidad y peor curva ROC que la PCT (123) (125) (119). Aún así es ampliamente usada en la práctica clínica debido a su gran disponibilidad. Más que una determinación aislada, son las determinaciones seriadas las que han demostrado tener más validez para el diagnóstico de infección (146). De tal manera que un aumento del 25% de su valor, en ausencia de otras causas no infecciosas, es altamente indicativo de infección (147). De hecho, sus variaciones en las primeras 48h pueden ayudar a evaluar la respuesta al tratamiento antibiótico (148), y las concentraciones persistentemente altas de PCR están asociadas con fallo orgánico y muerte, de igual manera que concentraciones altas al ingreso (149). En los pacientes no sépticos con insuficiencia renal en hemodiálisis, la diálisis no parece tener efecto sobre sus concentraciones (137). Sin embargo, la forma en la que está presente la PCR en sangre es un monómero de 18-22 KDa, y no la forma pentamérica descrita como PCR nativa (150), por lo que la filtración de la PCR con las membranas habitualmente usadas en la práctica clínica que tienen un cut-off de 35 KDa, es posible (151), a lo que se añade la contribución del mecanismo adsorptivo de las membranas en la reducción de la PCR (152). Son fundamentos de terapias de reemplazo renal que se desarrollan al completo en el siguiente apartado.

En conclusión, el poder de la PCR como biomarcador es limitado, la PCT ha demostrado superioridad con respecto a la PCR en numerosas situaciones: mejor diagnóstico de complicaciones infecciosas en quemados (109); mejor diagnóstico de peritonitis bacteriana espontánea en cirróticos (153); mejor diagnóstico de neumonía adquirida en comunidad (125); mejor predictor de mortalidad hospitalaria con mediciones seriadas de PCT en pacientes sépticos que con las de PCR (154) y mejor predictor de mortalidad del paciente crítico a los 90 días (117), entre otros.

- **Interleukina 6:**

Es una glucoproteína con peso molecular entre 21 y 26KDa, secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos, sintetizada en etapas iniciales de la inflamación, inducida por IL-1 y el TNF α . Sus funciones son múltiples: actúa a nivel de los hepatocitos induciendo la síntesis de proteínas de fase aguda como PCR, amiloide A sérico, fibrinógeno, haptoglobina entre otras; induce la producción de inmunoglobulinas M, G y A de las células B; está también relacionada con la hematopoyesis, induciendo proliferación de progenitores hematopoyéticos (155). En individuos sanos los niveles de IL-6 oscilan entre 0,2 y 7,8 pg/ml, en la sepsis pueden llegar a sobrepasar los 1600 pg/ml, con pico de concentración precoz a las pocas horas (156). Los umbrales propuestos para el diagnóstico de sepsis son entre 100 y 200 pg/ml (157)(158), con gran variabilidad entre los estudios revisados. Se han detectado elevaciones modestas de IL-6 con el ejercicio físico (159), con la edad avanzada (160) y en la hiperglucemia (156). Elevaciones más importantes se han objetivado en el shock hemorrágico y en los politraumatismos (161), siendo más altas las concentraciones de IL-6 en sangre en los sujetos con traumatismos graves (162). La hiperinflamación producida por las pancreatitis agudas también eleva los niveles de IL-6 hasta los 30000 pg/ml (163). Y niveles similares de IL-6 a los descritos en el shock séptico pueden hallarse en el shock cardiogénico con disfunción multiorgánica (164).

La validez de la IL-6 para el diagnóstico temprano de la sepsis ha sido estudiada en numerosas publicaciones, algunas de las más relevantes para el objeto de nuestro estudio se detallan a continuación. En pacientes sometidos a ventilación mecánica *Ramirez et al* investigaron los niveles en sangre de IL-6 para predecir el riesgo de neumonía asociada a ventilación mecánica, detectando valores más altos de IL-6 en pacientes con neumonía confirmada, con sensibilidad de 71% y especificidad de 78%, afirmando que la IL-6 es un indicador temprano y preciso para detectar pacientes con mayor riesgo de neumonía asociada a ventilación mecánica (165). También se ha evaluado a nivel pulmonar; *Tsantes et al* valoraron en el SDRA la capacidad de la IL-6 frente a la PCT para detectar una infección concurrente y para predecir mortalidad, concluyendo que aunque los niveles de IL-6 eran superiores en los pacientes infectados, la AUC ROC de la PCT era más discriminante que la de la IL-6 y ninguno de los dos biomarcadores era superior para predecir la supervivencia de estos pacientes (166).

Por otra parte, un reciente estudio prospectivo de 652 pacientes reciente (167) determina valores AUC ROC de 0,803 - 0,770 - 0,737 para respectivamente IL-6, PCT y Dímero D, obteniendo mejor capacidad predictiva agrupando los 3 marcadores que con cada uno por separado, evidenciando la ventaja posible de la combinación de biomarcadores para aumentar la capacidad de diagnóstico de la sepsis. En las bacteriemias la PCT ha mostrado mayor capacidad diagnóstica que la IL-6 (168). Sin embargo, la IL-6 ha demostrado ser buen marcador precoz de mortalidad en los pacientes críticos, en concreto la persistencia de niveles altos al 3er día de ingreso en UCI

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

(169). De nuevo *Jekarl et al* (157) en un estudio prospectivo que compara PCT, IL-6 y PCR, encuentran mejor rendimiento diagnóstico para la PCT con respecto a los otros, pero en cuanto a marcador pronóstico, objetivan un descenso de IL-6 de más del 86% en el grupo de los supervivientes, evidenciando mejor perfil predictor que la PCT en pacientes sépticos y considerando validado que la IL-6 tiene utilidad para monitorizar la efectividad del tratamiento. No obstante, esta gran variabilidad entre los estudios que investigan la utilidad de la IL-6 en la sepsis, con puntos de corte diferentes y heterogeneidad en cuanto a los criterios diagnósticos utilizados ha sido reflejada en el metanálisis de *Iwase* y colaboradores de 2018 (170). En él se atribuye un valor diagnóstico moderado a la IL-6, con sensibilidad de 0,73 y especificidad de 0,76 y curva ROC de 0,81, pero aún mantiene una potencial utilidad clínica para diferenciar infección en el paciente crítico de no infección, y una más evidente correlación entre niveles altos de IL-6 y gravedad y pronóstico de los pacientes críticos.

En definitiva, teniendo en cuenta sus cinéticas con la rápida elevación en sangre sobre todo de IL-6 y posteriormente PCT, junto con otro marcador STREM-1 (*soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1*) se ha propuesto como buena estrategia la combinación de ellos para diagnosticar la sepsis precozmente (171).

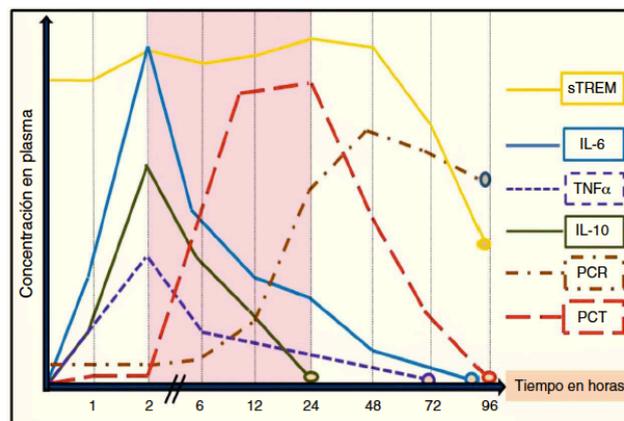


Figura 4. Cinética de las concentraciones en sangre de PCT, PCR e IL-6 entre otros biomarcadores de inflamación e infección en las primeras 96h de la sepsis.

Extraído de Jiménez et al 2014 (172). A modo de resumen de la cinética de PCT, IL-6 y PCR, en la figura 4, se expresa la evolución de estos tres biomarcadores, entre otros, a lo largo de las primeras 96h horas de un modelo de sepsis. La zona que destaca en rojo es la ventana temporal donde existe un aumento de señal de biomarcadores.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- **Nucleosomas:**

Los pacientes sépticos presentan niveles altos en sangre de histonas, proteínas nucleares resultantes del daño tisular inicial, que participan en la compleja fisiopatología de la sepsis, como hemos descrito en el apartado 1.1.4.

Las histonas participan en la patogénesis de la sepsis a distintos niveles: dañan el endotelio (83), activan de la cascada de la coagulación(82) (84), participan en el estado pro-inflamatorio (83), colaboran en la inmunodepresión asociada a la sepsis (71), se han relacionado específicamente con daños orgánicos en el corazón (50) y en los pulmones (48).

Los nucleosomas son estructuras que constituyen la unidad fundamental de la cromatina, consisten en un octámero de histonas alrededor del cual se enrollan 147 pares de bases del ADN (173).

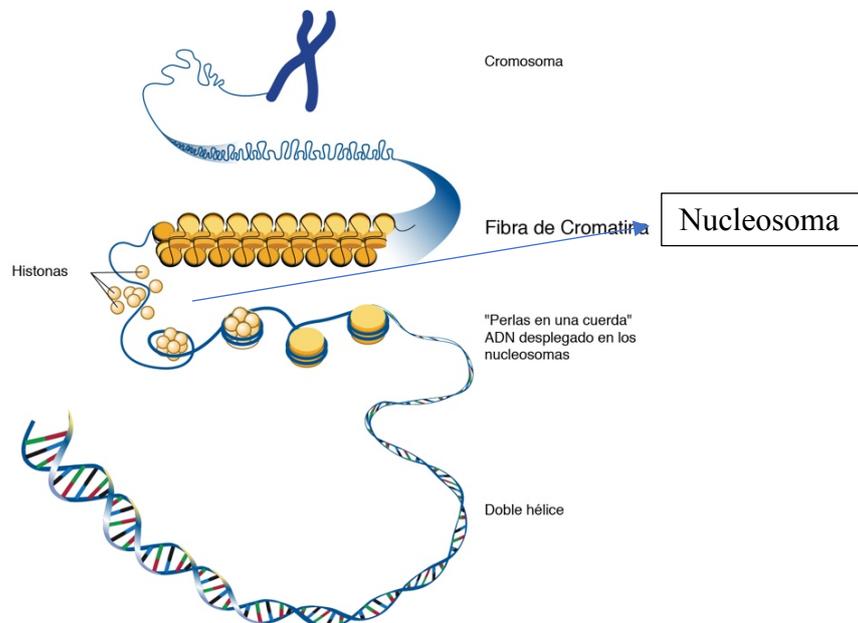


Figura 5. Organización de la cromatina.

Extraído de www.genome.gov (174). Representación simplificada de la organización de la cromatina, desde la estructura de doble hélice, hasta el cromosoma.

Las histonas y nucleosomas se detectan en sangre en etapas iniciales de la sepsis, durante la netosis (fibras de cromatina, péptidos antimicrobianos, histonas y nucleosomas y otros componentes nucleares), proceso que intenta combatir la presencia de microorganismos, pero que también puede desregularse llegando a ser proinflamatorio y procoagulante (57). Pero también se liberan histonas en sangre tras el daño endotelial (175). Las histonas, que funcionan como DAMPs a través del reconocimiento molecular de patrones, activan la respuesta inflamatoria.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Las histonas circulantes se han estudiado como biomarcadores en la sepsis, iniciando un nuevo camino en el diagnóstico y pronóstico de los pacientes a distintos niveles:

Biomarcador de disfunción cardíaca asociada a la sepsis: En el estudio de *Alhamdi et al* (50), se determinaron los niveles de histonas circulantes en sangre en 65 pacientes sépticos y se analizó su relación con la aparición de disfunción cardíaca asociada a la sepsis, evidenciando correlación con los niveles de troponina T, con las dosis de noradrenalina con el score SOFA y con la mortalidad de los pacientes.

Biomarcador de diagnóstico precoz y pronóstico de shock séptico bacteriémico: En el estudio de *García-Giménez et al* (49) se analizaron muestras de 17 pacientes sépticos vs 10 controles sanos, determinando niveles de histonas H3 y H2B con AUC ROC de 0,982 y 0,859 respectivamente, objetivando correlación entre niveles altos de histonas en las primeras 24h y mortalidad.

Biomarcador de diagnóstico de shock séptico y predictor de mortalidad: en el estudio de *Ekaney et al* (176) se constituyeron 2 cohortes de 15 y 17 pacientes sépticos críticos y se compararon con pacientes críticos sin sepsis con insuficiencia orgánica o con trauma menor. Los niveles de histona H4 fueron significativamente más altos en los pacientes sépticos, tuvieron correlación inversa con la cifra de plaquetas y con los niveles de proteína C activada. Los niveles altos de H4 se asociaron con necesidad de terapias de reemplazo renal y con mayor mortalidad a los 90 días.

Los nucleosomas circulantes en pacientes sépticos también han sido abordados por diferentes grupos de trabajo:

Chen et al (177) realizaron un estudio prospectivo en 165 pacientes críticos en los que determinaron nucleosomas circulantes, entre otros biomarcadores (PCR, IL-6, IL-10) en varios tiempos del ingreso, objetivando un AUC ROC de 0,67 para el diagnóstico de sepsis, encontrando además una correlación positiva entre los niveles altos de nucleosomas y la respuesta inflamatoria, la disfunción orgánica y la inmunoparálisis (medida a través de la IL-10).

Zeelader et al (178) analizaron nucleosomas circulantes en 14 pacientes con fiebre, 15 con SIRS, 32 con sepsis y 8 con shock séptico, detectando niveles significativamente más altos cuanto más grave es la sepsis y aún más altos en los no supervivientes. En un nuevo estudio del grupo de *Zeelader et al* (179) prospectivo aleatorizado controlado, se administró proteína C o placebo a 38 niños con sepsis meningocócica, midiendo niveles de nucleosomas circulantes. Encontraron correlación positiva entre los niveles de nucleosomas, la disfunción orgánica, la concentración de citoquinas, la coagulopatía, y la mortalidad de los pacientes, sin demostrar disminución de nucleosomas tras la administración de proteína C.

Tanto histonas, como nucleosomas y ADN libre plasmático (43) han sido relacionados con la presencia de sepsis y con su pronóstico, y podrían incluirse en un futuro próximo dentro de paneles de biomarcadores, o test combinados para diagnosticar la sepsis y/o predecir su mala evolución (180).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- **HMGB1: Proteína de alta movilidad del grupo 1**

Es una proteína nuclear no histona que participa en el plegamiento del ADN y puede liberarse de manera pasiva al medio extracelular por la necrosis celular o activamente por monocitos y macrófagos. (40) Varios tipos celulares pueden secretar HMGB1: neuronas, enterocitos, células del músculo liso y células endoteliales (181)(182). Es considerada como una “alarmina” o DAMP, entre sus acciones extracelulares se han descrito: la inducción de la respuesta inflamatoria (37), actividad proangiogénica (183) además se le atribuye capacidad para reclutar células madre (184), para promover su proliferación y por lo tanto contribuir en la regeneración tisular (185).

De manera experimental, mediante infusión de endotoxina se detecta por primera vez en la circulación ocho horas después de la aparición de la enfermedad con pico a las 16-32h (186). Por su relación con la respuesta inflamatoria y por lo tanto como mediador en la sepsis, esta proteína ha sido objeto de estudio por diferentes grupos: *Gibot et al* (187) realizan estudio prospectivo extrayendo muestras en distintos tiempos en 42 pacientes con shock séptico, encontrando que niveles > 4ng/ml de HMGB1 en el día 3 discriminan entre supervivientes y no supervivientes, evidenciando correlación de niveles altos con gravedad de los pacientes (medido por SOFA score lactato y PCT). *Sundén-Cullberg et al* (188) realizan otro estudio prospectivo en 59 pacientes en shock séptico, midiendo concentraciones de HMGB1, encontrando que los niveles de HMGB1 en los fallecidos fueron significativamente más bajos que en los supervivientes.

Esta controversia, con resultados opuestos, podría explicarse por una dualidad de acciones de estas proteínas, con una etapa inicial en la que la respuesta inflamatoria y la producción de citoquinas puede llevar a una muerte inicial, pero sin embargo en una fase tardía, estas proteínas, y su papel descrito en la regeneración de ciertos tejidos, podría tener una función de recuperación celular y tisular.

1.1.6 FRACASO RENAL AGUDO SÉPTICO

- **Epidemiología:**

La sepsis es la causa más frecuente de fracaso renal agudo (FRA) en el paciente crítico (189). En el estudio epidemiológico internacional prospectivo transversal realizado por *Hoste et al* (189) entre los años 2009 y 2010 en las unidades de cuidados intensivos de Canadá, se analizó el FRA según criterios KDIGO (190) : 57% de los pacientes críticos lo presentaron , y la sepsis fue la etiología en el 40,7 % de los casos. En términos generales, la mitad de los pacientes sépticos tienen fracaso renal agudo (191) y cuanto más grave es la sepsis más riesgo existe de fracaso renal (192). El estudio SOAP (*Sepsis Occuring in Acutely ill Patients*) (14) en 2006, analizó una cohorte

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

de pacientes ingresados en 198 unidades de cuidados intensivos: de 3147 pacientes 37% tuvieron sepsis y 51% de ellos tuvieron fracaso renal agudo, que se asoció con una mortalidad en UCI del 41%. En España, el estudio realizado en 2006 por *Herrera et al* (193), multicéntrico prospectivo durante 8 meses en 43 unidades de cuidados intensivos, analizó la aparición de fracaso renal agudo (definido por $Cr \geq 2\text{mg/dl}$, volumen urinario $< 400\text{ ml/día}$, excluido el fracaso renal crónico). Reportaron una incidencia de FRA del 5,7%: 38% de ellos precisaron terapias de remplazo renal (TRR). La mortalidad global del FRA fue de 42,3%, 40 % para los pacientes sépticos. El 85,6% de los pacientes con FRA recuperaron la función renal al alta de UCI y tan solo 1,1 % mantenía necesidad de diálisis al alta de UCI.

En el estudio prospectivo observacional internacional BEST Kidney (*Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney*) realizado entre el año 2000 y 2001 por *Bagshaw et al* (194) se analizaron 1753 pacientes de 54 hospitales en 23 países: el FRA séptico se asocia a mayor gravedad en comparación con el no séptico, supuso estancias hospitalarias más prolongadas y mayor mortalidad hospitalaria. No se encontraron diferencias en la necesidad de terapia de remplazo renal (TRR) entre el FRA séptico y el no séptico, y en total el 71% de los pacientes requirió terapias continuas de remplazo renal (TCRR).

La necesidad de TRR en el FRA séptico varía en función de la heterogeneidad de la población incluida en los estudios de las distintas unidades de críticos: el 30% de los pacientes sépticos incluidos en el estudio VANISH Trial (*Vasopressin vs Norepinephrine as initial therapy in septic shock*) en 2016 requirió TRR (195); 38% de los pacientes con FRA del estudio de *Herrera et al* requirió TRR (193); 72 % de los pacientes con FRA del estudio observacional prospectivo internacional en 2005 de *Uchino et al* (196) tuvieron necesidad de TRR. La incidencia global de FRA fue de 5,7 %, siendo la mayoría pacientes postquirúrgicos de cirugía cardíaca, y la etiología del FRA la sepsis en su mayoría (47,5%), con una mortalidad hospitalaria de 60,3 %.

En el estudio de *Wald et al* (191) en 2015 se analizaron de forma retrospectiva los datos de los pacientes ingresados en UCI con FRA, sometidos a TCRR vs técnicas intermitentes. Desde 1996 a 2010 observaron un aumento de hasta 4 veces en la incidencia de fracaso renal agudo que requiere TRR (continuas o intermitentes), destacando también en sus resultados menor riesgo de diálisis crónica en el grupo de técnicas continuas vs intermitentes, sin diferencias en términos de mortalidad a los 90 días.

Los factores de riesgo independientes para mortalidad en el FRA son: el uso de vasopresores, la ventilación mecánica, el shock séptico, el shock cardiogénico y el síndrome hepatorenal. (196)

Los resultados de los pacientes sépticos que requieren TRR han mejorado en los últimos años (191) con una explicación incierta: mejor conocimiento diagnóstico y tratamiento de la sepsis y/o la disfunción renal, mejor desarrollo de la tecnología referente a TCRR, una estrategia de inicio más liberal, entre otros (197).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- **Definición:**

La definición actual del fracaso renal se basa en los criterios KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) del 2012 (190): aumento de la Creatinina sérica $\geq 0,3\text{mg/dl}$ en 48h, o el aumento $\geq 1,5$ veces del valor basal o un volumen urinario $\leq 0,5\text{ml/kg/h}$ durante 6h.

Los estadios del fracaso renal agudo vigentes en la actualidad según las guías KDIGO, se definen por el aumento de la creatinina sérica y el descenso del volumen urinario (Tabla 4).

Estadios	Creatinina sérica	Débito urinario
1	Aumento de 1,5-1,9 basal, o $\geq 0,3\text{mg/dl}$	$< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ durante 6-12h
2	Aumento de 2-2,9 basal	$< 0,5 \text{ ml/kg/h} \geq 12\text{h}$
3	Aumento de 3 basal, o $\geq 4 \text{ mg/dl}$, o inicio de TRR	$< 0,3\text{ml/kg/h} \geq 24\text{h}$, o Anuria $\geq 12\text{h}$

Tabla 4. Estadios del fracaso renal agudo.

Adaptado de Kellum et al (190) Los tres estadios se definen mediante el aumento de la creatinina sérica basal y débito urinario en un periodo de tiempo determinado (6-12h, $\geq 12\text{h}$ o $\geq 24\text{h}$).

Existen limitaciones a los criterios diagnósticos de la KDIGO: uno de ellos es la falta habitual del valor basal de creatinina sérica (198), además los cambios en la creatinina sérica y en el volumen urinario reflejan tarde el fracaso renal. Se ha propuesto un modelo conceptual de fracaso renal agudo en el que en las primeras etapas de la disfunción orgánica esta no es visible a ojos del clínico, manifestándose el fracaso del órgano en una fase más avanzada con un daño ya establecido y más difícil de recuperar (199).

Es por ello que se han propuesto nuevos biomarcadores que podrían detectar el fracaso renal agudo en la sepsis antes que los clásicos, como el NGAL urinario o plasmático (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) (200), o las proteínas TIMP2 (*tissue inhibitor of metalloproteinases-2*) y el IGFBP-7 (*insuline-like growth factor binding protein-7*), con buenos resultados diagnósticos en pacientes con alto riesgo de desarrollar fracaso renal agudo (201).

Por otra parte, estudios en modelos animales de cerdo han demostrado la existencia de un perfil genético diferente entre los que desarrollan fracaso renal y los que no lo hacen, que podría determinar la predisposición de ciertos pacientes a desarrollar fracaso renal en la sepsis (202).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- **Fisiopatología:**

Las primeras teorías del fracaso renal agudo en la sepsis estaban centradas únicamente en la hipotensión e isquemia renal como lesión primaria, por descenso en el flujo sanguíneo renal.(203) Pero desde entonces se ha demostrado que el daño renal en la sepsis no solo está mediado por hipoperfusión, si no que existen múltiples mecanismos que pueden coexistir: Modelos de sepsis animal han evidenciado que la hiperdinamia de la sepsis con gasto cardiaco aumentado se asocia con vasodilatación renal y aumento del flujo sanguíneo renal, junto con fracaso renal medido por reducción de aclaramiento de Cr y diuresis (204) (205). Estudios in vitro han confirmado que el plasma obtenido de pacientes con FRA séptico induce disfunción de las células del epitelio tubular (206). Las células del epitelio tubular contribuyen en la producción de mediadores inflamatorios que pueden lesionar al riñón o a órganos a distancia (207).

Dellepiane et al (208) sostienen entre otras, una teoría inflamatoria del fracaso renal séptico. En ella PAMPs como el lipopolisacárido y citoquinas inflamatorias sistémicas interactúan con los TLR de las células tubulares las cuales liberan moléculas proinflamatorias perpetuando el daño local y sistémico.

- **Factores de riesgo para FRA en pacientes con sepsis:**

La edad avanzada, la insuficiencia renal crónica, la diabetes mellitus, el fallo cardiaco, el cáncer y la enfermedad hepática son los factores de riesgo fundamentales (209). Y los focos de sepsis más frecuentemente asociados a FRA son: bacteriemias, endocarditis infecciosa, abdominal y urinario (210) . Estos factores de riesgo descritos serían no modificables, sin embargo, existen otros factores de riesgo modificables sobre los que el clínico puede actuar en etapas tempranas para prevenir el desarrollo de FRA, como: uso de contrastes, antibióticos nefrotóxicos , fármacos antiinflamatorios no esteroideos, hipotensión arterial e hipovolemia, entre otros (197).

El tratamiento precoz de la sepsis, con antibioterapia adecuada y control del foco séptico se ha asociado con menor riesgo de FRA (211); por el contrario la sobrehidratación se ha relacionado con malos resultados y aumento de mortalidad en el estudio *Vanish* de *Gordon et al* (195).

1.2 TÉCNICAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

Las TCRR son un método de purificación sanguínea extracorpóreo lento y suave, diseñado para emular la función depurativa del riñón (212). La evidencia actual y las guías KDIGO 2012 aconsejan utilizar las técnicas continuas frente a las intermitentes en caso de inestabilidad hemodinámica del paciente, como suele ser el caso del FRA séptico y en aquellos pacientes con presión intracraneal elevada (190). Además las técnicas continuas se asocian a una menor dependencia de diálisis al alta frente a las intermitentes (213–216), sin demostrar diferencias en términos de mortalidad (216).

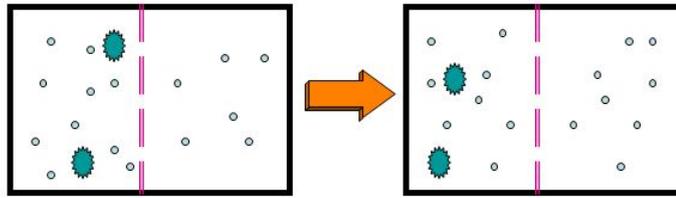
1.2.1 FUNDAMENTOS DE LA DEPURACIÓN DE MOLÉCULAS

En las técnicas continuas de remplazo renal la sangre es extraída del paciente a través de un catéter, habitualmente colocado en vena yugular o vena femoral, circula por la línea arterial hasta el filtro o membrana y tras ser depurada, vuelve por la línea venosa de nuevo al paciente. En el filtro se producen mecanismos de difusión, convección y adsorción que detallamos a continuación. Durante el proceso se obtiene el ultrafiltrado, resultante de los líquidos utilizados de diálisis, de los solutos extraídos y del balance negativo o líquido extraído del paciente.

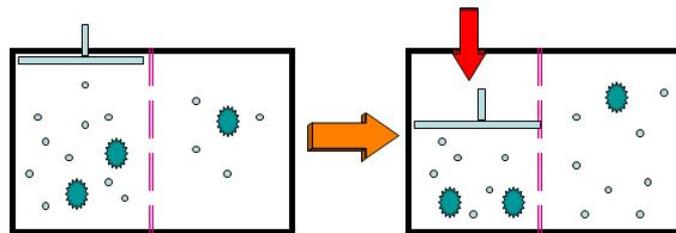
Cuando la sangre del paciente llega al filtro a través de los capilares que lo componen y se pone en contacto con la membrana, habitualmente una polisulfona semisintética biocompatible, suceden varios mecanismos que permiten la depuración de moléculas (217) (Figura 6). La difusión es el transporte pasivo de solutos a través de la membrana semipermeable, se produce por la diferencia de concentración entre ambos compartimentos, hasta que se produce un equilibrio entre ellos (ver Figura 5). El principal determinante es el gradiente de concentración, pero también influyen en ella la viscosidad de la sangre y el radio de las moléculas (asumiendo que la mayoría son globulares se tiene en cuenta su peso molecular), de forma que cuanto más pequeñas más dializables. (Ver Figura 5) Mediante este mecanismo se depuran moléculas inferiores a 500 Da como la creatinina. (218) La convección o ultrafiltración es el paso de solutos a través de los poros de la membrana, arrastrados por el movimiento del fluido provocado por un gradiente hidrostático u osmótico transmembrana. Depende de la superficie de la membrana, de la concentración del soluto en plasma y del S_c (*sieving coefficient* o coeficiente de cribado). Comparado con el transporte difusivo, el convectivo permite depurar solutos de más alto peso molecular y a mayor velocidad (219). El ultrafiltrado es el líquido y solutos extraídos de la sangre a través de este mecanismo (ver Figura 5). Mediante este mecanismo se depuran moléculas de mediano tamaño de 500 Da hasta 60 KDa, cuanto más alto más riesgo de pérdida de albúmina (218). La adsorción es el mecanismo mediante el cual moléculas disueltas (sobre todo péptidos y proteínas) se unen a la estructura de la membrana o a otras sustancias adsorbentes como carbón,

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

resinas o geles. La adsorción depende de características de la molécula (dimensión, carga y estructura) y de la membrana (porosidad, composición, hidrofobia, superficie).



DIFUSIÓN: Principal mecanismo de transporte de solutos
Por gradiente de concentración entre compartimientos



CONVECCIÓN (UF): Principal mecanismo de transporte de agua
Por gradiente de presiones entre compartimientos

Figura 6. Principales mecanismos físicos en diálisis.

Extraído de Lorenzo et al (220) En la difusión observamos como 2 líquidos con diferente concentración de solutos se enfrentan a través de una membrana porosa (representada en lila), se produce un movimiento mediante difusión desde el líquido más concentrado hacia el menos concentrado. En la convección, los mismos líquidos se enfrentan a través de la misma membrana, pero esta vez una presión hidrostática (flecha en rojo) “empuja” los solutos de un compartimento a otro, consiguiendo que solutos de mayor tamaño traspasen los poros de la membrana.

Un aspecto fundamental de las técnicas continuas es el método de anticoagulación del sistema utilizado, para mantener el circuito permeable. La heparina no fraccionada sigue siendo el método de anticoagulación más usado y más disponible (221), aunque con riesgos asociados (222). El efecto variable entre los pacientes, llamado “la resistencia a la heparina”, es un concepto utilizado para designar los casos en los que dosis crecientes no provocan la esperada prolongación del TTPA (Tiempo de tromboplastina parcial activado), método de monitorización de la actividad de la heparina más usado (223). La heparina no fraccionada ejerce su acción a través de la unión a la antitrombina, que aumenta la inhibición de la trombina y factor Xa. Por lo que una forma de medir el efecto de la heparina en estos pacientes es monitorizando el factor anti-Xa (224). La trombocitopenia inducida por la heparina es un proceso inmune en el que autoanticuerpos endógenos reconocen el factor plaquetario 4 unido a la heparina exógena, activando a su vez plaquetas circulantes a través de receptores de superficie, provocando trombocitopenia e hipercoagulabilidad (225).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

La seguridad y la eficacia de la heparina se basa en la monitorización del TTPA, que ha demostrado ser buen predictor de la coagulación del filtro y del riesgo de hemorragias del paciente, situándose su intervalo óptimo entre 35 y 45 segundos (222).

La anticoagulación con citrato-calcio ha demostrado seguridad y eficacia en las TCRR, reduciendo los efectos adversos, siendo el modo de anticoagulación de elección en la mayoría de los pacientes críticos (226). De esta forma se introduce citrato a la entrada de la sangre en el circuito, quelando el calcio libre ionizado, cofactor necesario en ambas vías de la coagulación. Previo al retorno de la sangre al paciente se introduce calcio, en cantidad proporcional a los controles sanguíneos sistémicos que se realizan.

1.2.2 CARACTERÍSTICAS DE LA MEMBRANA DEL HEMOFILTRO

El hemofiltro, o dializador, se compone de una carcasa que recubre una membrana semipermeable que separa dos compartimentos bien diferenciados por donde circulan la sangre y el líquido de diálisis. La superficie de la membrana es variable, depende de la intensidad del tratamiento (a más intensidad más superficie) y del peso corporal del paciente: desde 210 cm² para lactantes hasta 2m² para adultos. En su interior, el hemofiltro está diseñado mediante un modelo capilar: en él la sangre circula por el interior de las fibras colocadas como un haz a lo largo del filtro, y el líquido de diálisis circula en sentido opuesto por la parte exterior de las fibras (227).

La clasificación clásica de las membranas las diferenciaba por su composición entre celulósicas y sintéticas y por su permeabilidad al agua (de bajo flujo “*low-flux*”, o alto flujo “*high-flux*”) (228).

Las membranas sintéticas se realizan a partir de polímeros como la polisulfona, la poliamida y poliacrilonitrilo (229). Estas membranas, en comparación con las celulósicas demuestran muy buena biocompatibilidad, alta permeabilidad al agua y coeficientes de cribado mejorados, conceptos que se detallan a continuación (230).

El espesor de la membrana es un factor determinante para el transporte de solutos, además del coeficiente de difusión del soluto (que depende de su peso molecular y de su radio), de la temperatura del fluido y del área de la superficie de intercambio (231). El espesor se ha reducido hasta llegar a los 30 µm o menos, con una capa interna de 1-2 µm, lo que ha contribuido a reducir la resistencia de la membrana y ha permitido utilizar modalidades combinadas de difusión y convección (232). En el transporte de solutos a través de la membrana también influyen la cantidad de poros el tamaño y la distribución que tenga la membrana (233).

Las membranas tienen toda carga negativa, descrito como “potencial Z” (233), las cargas negativas que la componen repelen las partículas con carga negativa, y atraen las positivas, lo que puede facilitar o interferir en la capacidad de adsorción de las sustancias.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

En cuanto a la permeabilidad al agua, las primeras membranas sintéticas eran muy hidrofóbicas requiriendo modos convectivos para ser eficaces. Sin embargo, las modificaciones de polímeros y otros materiales han creado membranas menos hidrofóbicas que permiten utilizar modos de difusión o convección (234).

El transporte por difusión está determinado por el gradiente de concentración y por el coeficiente de difusión (K_o) (217), es el aclaramiento máximo teórico de un dializador, dado un flujo infinito tanto de sangre como de líquido de diálisis: es producto de la permeabilidad del dializador por su superficie, se mide en ml/minuto. Depende de la resistencia a la difusión de cada soluto (según su peso molecular) en los tres compartimentos del filtro (sangre, membrana y dializado). Indica la eficiencia del dializador, es propio de cada dializador y es definido por el fabricante. El gradiente de concentración es la diferencia de concentración de un soluto entre el compartimento sanguíneo y el del dializado. Este gradiente se optimiza si el líquido de diálisis circula solo una vez, a contracorriente y paralelo al flujo de la sangre.

Por su parte, el sistema convectivo es capaz de generar el ultrafiltrado mediante la creación de un gradiente de presión transmembrana (TMP o *transmembrane pressure gradient*). Para caracterizar el mecanismo de convección se utilizan distintos conceptos (217): El coeficiente de ultrafiltración de la membrana (K_{UF}) representa la permeabilidad al agua de la membrana por unidad de presión y superficie. Depende de las dimensiones de la membrana y del número de poros, siendo la unidad de medida ml/h/mmHg/m². La fórmula que lo representa es la siguiente: $K_{UF} = (Q_{UF} / TMP) \times 1 / A$; siendo Q_{UF} : Flujo del ultrafiltrado; TMP: presión transmembrana; A: superficie de membrana). El K_{UF} define las membranas como de alto flujo (“high-flux”) por encima de 25 ml/h/mmHg/m², medio flujo (“middle-flux”) entre 10 y 25 ml/h/mmHg/m² o bajo flujo (“low-flux”) por debajo de 10 ml/h/mmHg/m², aunque no existe claro consenso en la literatura a cerca de estas cifras.

El concepto de coeficiente de cribado o *sieving-coefficient* (SC) de la membrana para un soluto determinado, es la relación entre la concentración de un soluto en el ultrafiltrado y en el plasma. Para solutos de bajo peso molecular (PM) (sodio, potasio y urea) es próximo a 1 (es decir, igual en el ultrafiltrado y en el plasma). El coeficiente de cribado es específico para cada soluto y para cada membrana y responde a la ecuación: $Sc = C_{UF} / [(C_{Pi} + C_{Po})/2]$ C_{UF} (concentración del soluto en el ultrafiltrado) C_{Pi} (concentración del soluto prefiltro) C_{Po} (concentración del soluto postfiltro).

El concepto de “cut-off” o punto de corte representa el peso molecular de los solutos más pequeños retenidos por la membrana. Es otra forma de determinar la capacidad de eliminar solutos por el hemofiltro. Los poros de las membranas de TCRR permiten el paso de moléculas de aproximadamente 35.000 Da. En la práctica clínica, las membranas de alto o medio cut-off

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

(60-50 KDa) no se usan con mecanismo de convección, y pueden aumentar la pérdida de albúmina (218).

La evolución de los distintos materiales de los que se componen las membranas de diálisis ha incorporado nuevos parámetros que permiten clasificar las membranas de manera distinta a la clásica(233). Además de conceptos clásicos como estructura, superficie, hidrofilia, hidrofobia, espesor, arquitectura o capacidad de adsorción, se introducen nuevos conceptos como el MWCO (*molecular weight cut-off*) y el MWRO (*molecular weight retention onset*) : ambos describen la pendiente de la curva del coeficiente de cribado de la membrana (ver figura) y la distribución y tamaños de poros, con consecuencias en distinta depuración de moléculas.

- MWCO : definido por el peso molecular que corresponde a un sieving de 0,1.
- MWRO : definido por el peso molecular que corresponde a un sieving de 0,9.

Se describe así el punto de corte superior e inferior de la capacidad de filtrado de las distintas membranas (Figura 7).

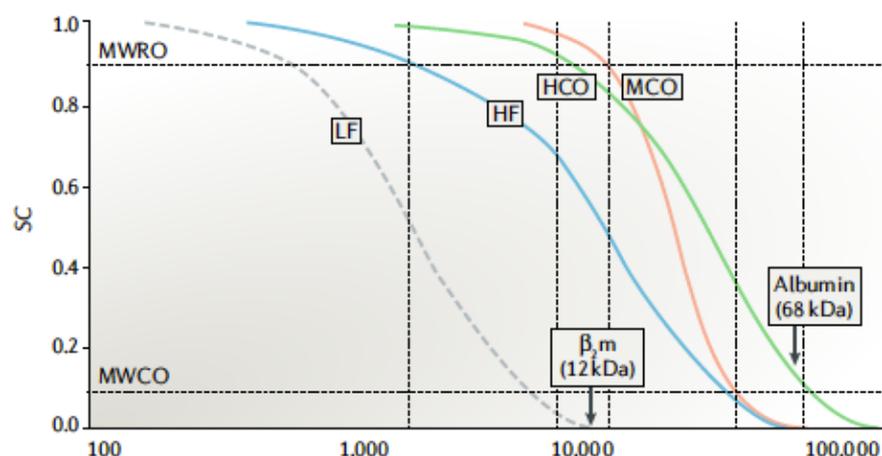


Figura 7. Clasificación actual de las diferentes membranas de hemodiálisis.

Extraído de Ronco et al (230) MWCO: Molecular Weight Cut-off; MWRO: Molecular Weight Retention Onset; LF: Low Flux; HF: High Flux; HCO: High Cut-off: Membranas con alta permeabilidad al agua con un sieving para la B₂ microglobulina de 1. Usadas en situaciones especiales por su potencial pérdida de albúmina, como para la diálisis en el riñón del mieloma. (235) MCO: Middle Cut-off Diseñadas para disminuir las pérdidas de albúmina pero con similar sieving para la B₂ microglobulina en comparación con las HCO.

La biocompatibilidad de la membrana es el resultado de las reacciones que provoca la membrana al paso de la sangre. Una de las más conocidas es la activación del complemento: los grupos hidroxilo de la membrana activan la vía alternativa, liberándose anafilotoxinas (C3a , C5a) y otros productos (C3b, iC3b, C5b-C9), con pico máximo de C5a a los 15 minutos y descenso progresivo hasta los 90 minutos. Esto desencadena la activación y la modulación de leucocitos periféricos, producción de Il-1 y liberación de especies reactivas de oxígeno. Este hecho, es máximo en membranas celulósicas tipo cuprofán, y mínimo con las polisulfonas y poliamidas (236) (237).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Por otra parte, la hemodiálisis parece tener cierto efecto en la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-6: *Memoli et al* (238) detectan niveles elevados de la forma soluble del receptor de la IL-6 (sIL-6R) en sujetos dializados con membranas de cuprofán con respecto a los controles, pero también en pacientes urémicos no dializados. Membranas de polimetilmetacrilato generan niveles menos elevados de sIL-6R pero sin diferencias con respecto a los controles sanos. *Caglar et al* (239) objetivan un aumento de la IL-6 durante y después de la hemodiálisis hasta del 70% , igual que un aumento de fibrinógeno, con niveles más altos de IL-6 a las 2h post diálisis. *Kakuta et al* (240) detectan producción significativa de IL-6 asociada a la diálisis con distintas membranas de polisulfonas. Aunque hay que considerar también que, respecto a la respuesta inflamatoria, la enfermedad renal crónica por si misma implica también : aumento del estrés oxidativo (241), pérdida del aclaramiento de citoquinas, producción elevada de TNFa e IL-1 y aumento de los niveles sanguíneos de IL-6 (242).

1.2.3 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

Las combinaciones posibles con una máquina de diálisis continua son múltiples, con una nomenclatura que indica los mecanismos físicos utilizados. (243) En función del mecanismo utilizado (visto en el apartado 1.2.1), se definen las terapias continuas más utilizadas en la práctica clínica de cuidados intensivos: HDVVC: Hemodiálisis venovenosa continua (mecanismo difusivo); HDFVVC: Hemodiálfiltración venovenosa continua (mecanismo difusivo y convectivo); HFVVC: Hemofiltración venovenosa continua (mecanismo convectivo); HP: Hemoperfusión (mecanismo adsorbtivo)

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

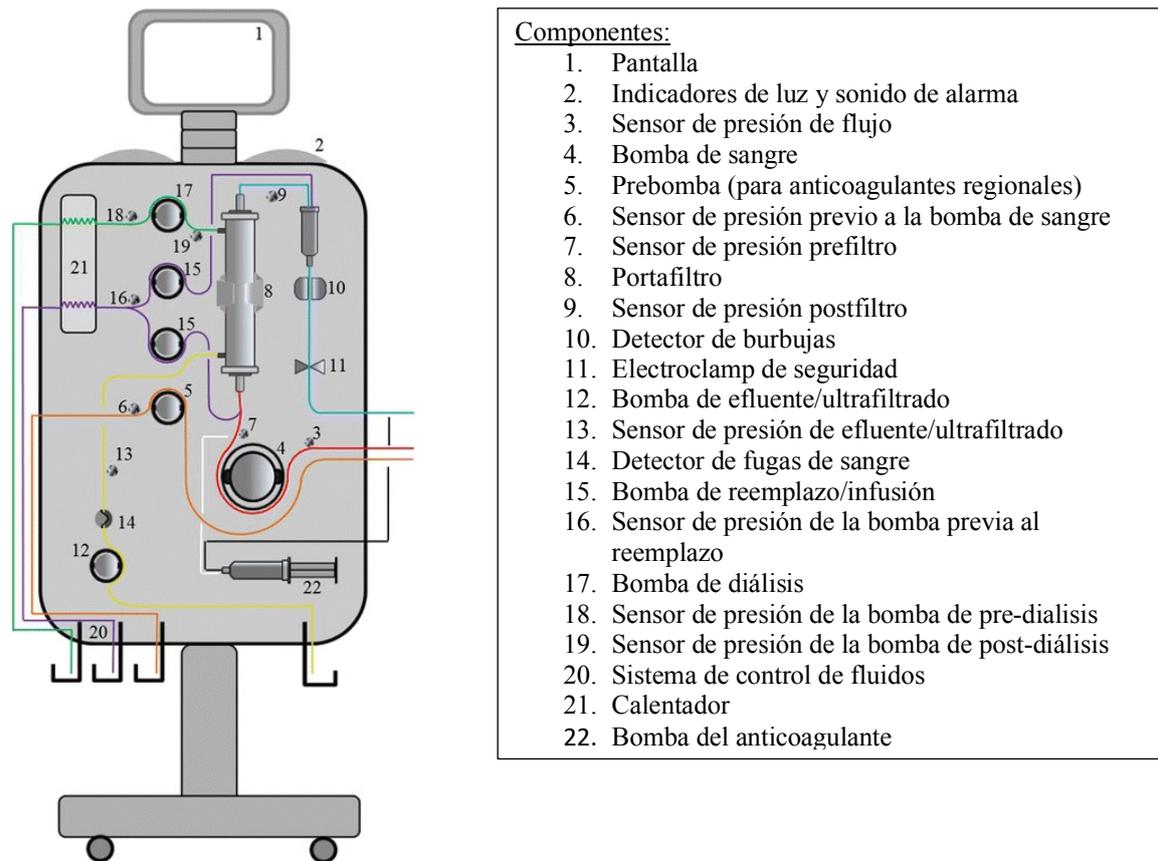


Figura 8. Descripción de la máquina estándar de TCRR.

Extraído de Villa et al (243). Se esquematiza la máquina de TCRR con los componentes básicos enumerados.

En la hemodiálisis venovenosa continua (HDVVC), se utiliza fundamentalmente el mecanismo de difusión para depurar la sangre de solutos. La sangre y el líquido de diálisis circulan en contracorriente. Es muy efectiva para eliminar solutos de pequeño tamaño, pero los filtros de alto flujo permiten también realizar transporte convectivo de moléculas mayores (244) En esta técnica se programa: el flujo de diálisis, el flujo de la bomba de sangre (que marca a la velocidad que se extrae y retorna la sangre), y el balance negativo que queremos del paciente (es decir la cantidad de líquido que se extraiga por hora). El mecanismo se resume en la figura 9.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

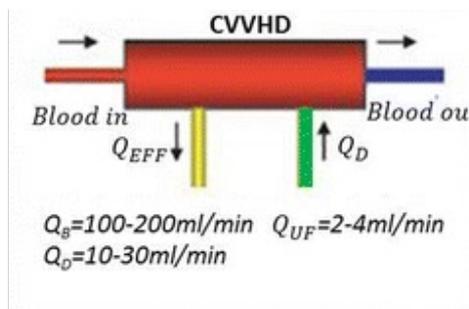


Figura 9. Mecanismos de HDVVC.

Extraído de Villa et al (243) La sangre entra por un extremo del cartucho o hemofiltro (representada en rojo), el flujo de sangre o Q_s suele tener unos valores de 100-200 ml/min, el líquido de diálisis (verde) entra en sentido contrario en el hemofiltro, el líquido del efluente o Q_{EFF} sale del hemofiltro y engloba el líquido de diálisis y el ultrafiltrado (UF) o líquido extraído del paciente que puede oscilar entre 2-4ml/min, finalmente la sangre depurada retorna al paciente (azul).

1.2.4 MOMENTO DE INICIO DE LA TRR EN LA SEPSIS

Según las indicaciones del consenso KDIGO de 2012, las TRR deben iniciarse de forma urgente si las alteraciones del equilibrio ácido-base, la sobrecarga de fluidos o la diselectrolitemia ponen en peligro la vida del paciente. Para el resto de situaciones, aconsejan valorar la situación clínica general del paciente más que los valores aislados de urea y creatinina (190).

El tiempo óptimo para su inicio no está definido, y que la decisión de posponer la técnica se fundamenta en los riesgos que conlleva (hipotensión, arritmias, incompatibilidad con la membrana, complicaciones con el acceso vascular y riesgo de la anticoagulación) (190).

El tratamiento de soporte renal en el paciente crítico tiene como objetivos: mantener el equilibrio ácido-base y la homeostasis, restablecer el balance de fluidos y de electrolitos, prevenir daños renales, permitir la recuperación renal posterior y que se puedan administrar tratamientos con grandes volúmenes como el soporte nutricional y algunos antibióticos (190).

Una de las teorías que sostienen la utilización precoz de las terapias de remplazo renal en la sepsis es eliminar mediadores inflamatorios, para conseguir una “homeostasis inmunológica” que podría reducir el daño causado por la desregulación de la respuesta inflamatoria ante la infección (245).

Una de las teorías que apoyan este posible beneficio es la de “la hipótesis de la concentración pico”: se eliminarían los picos máximos de mediadores inflamatorios solubles (246). Aunque en los estudios nunca ha sido demostrada (247).

La teoría citokinética, basada en modelos animales e in vitro, postula que la circulación de leucocitos está determinada por los gradientes de citoquinas y que eliminando citoquinas se crea un mayor flujo de leucocitos hacia los tejidos (248).

Aunque las guías de KDIGO 2012 se asientan en estudios en su mayoría observacionales, y los grandes estudios multicéntricos que evalúan el momento adecuado para el inicio de las TRR en

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

el paciente crítico, han surgido a posteriori. Los más destacados, centrados en el paciente séptico, se detallan a continuación.

El estudio de *Payen et al* en 2009 (249), prospectivo aleatorizado de cohortes desde 1999 a 2000, incluyó a 76 pacientes sépticos en una UCI mixta (patología médica y quirúrgica); los criterios de sepsis que consideraron fueron : infección sospechada con 2 criterios de SIRS y 1 o más fallos orgánicos. Se constituyeron 2 grupos: grupo tratamiento con TCRR aplicada en menos de 24h tras la randomización y grupo control con tratamiento convencional para la sepsis. La dosis de hemofiltración (mecanismo convectivo) fue dosis fija de 25ml/kg/h durante 96 horas. La anticoagulación del sistema se realizó con heparina sódica a dosis de 5 ui/kg/h. Se cambiaron filtros a las 12, 24 y 48h. Se midieron citoquinas (TNF α , IL-10, IL-1ra, IL-6, receptor soluble de IL-6, entre otras) en sangre al inicio de la terapia, a la hora y a las 12h del inicio de los filtros durante las primeras 24h, así como en el ultrafiltrado en los distintos tiempos. Para los pacientes sin terapia se midieron citoquinas en sangre en el momento de la inclusión, a las 12 y a las 24h. En total se analizaron citoquinas de 10 pacientes hemofiltrados y de 8 controles por interrupción temprana del estudio. Tanto a nivel basal como en los tiempos programados no hubo diferencias en cuanto a los valores de citoquinas entre los 2 grupos, a pesar de que se detectaron valores en el ultrafiltrado de IL-6 y IL-8 cercanos al 35% de los plasmáticos, con correlación entre valores plasmáticos y de ultrafiltrado. No se observaron diferencias significativas entre los 2 grupos para las mediciones de citoquinas en los distintos tiempos. Sin embargo, se observaron diferencias significativas, con valores más altos de IL-6 IL-10 y PCT en los fallecidos con respecto a los supervivientes. Como el objetivo primario del estudio era la evolución del SOFA a los 14 días y secundario la mortalidad, tras un análisis interno el comité decidió parar el estudio, ya que el número y severidad de los fracasos orgánicos fue significativamente más alto en el grupo de hemofiltración. No se analizó el descenso de IL-6 en ambos grupos. Finalmente, no se encontraron diferencias significativas en mortalidad a los 28 días entre las cohortes. El destete de la ventilación mecánica y la retirada de las catecolaminas fue más largo en el grupo que recibió hemofiltración precoz, además la necesidad de soporte renal posterior fue más alta en el grupo de los hemofiltrados. Destaca de este estudio, que trataba de demostrar que el interés de las TCRR no es suplir la función del riñón cuando este falla, si no prevenir la aparición de nuevos fallos orgánicos en la sepsis si se inicia precozmente, en el desarrollo de la etapa inflamatoria. Como debilidades del estudio cabría resaltar que la función renal de ambos grupos se situaba en un estadio 2 según KDIGO sin saber valores basales de creatinina, ni si existía fracaso renal crónico previo, siendo los tiempos de evolución del deterioro séptico similares entre los grupos, en torno a las 48h, en la etapa precoz de la sepsis. La conclusión del mismo es que la aplicación precoz de TCRR en pacientes con sepsis y fallo orgánico aumenta los fallos orgánicos del paciente, prolonga los soportes orgánicos, sin diferencias en cuanto a mortalidad.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

El estudio de *Gaudry et al* en 2016 (250), randomizado multicéntrico de 620 pacientes críticos médico-quirúrgicos, analiza una muestra de pacientes que incluye un 78% de pacientes con sepsis, con estadio KDIGO 3 de fracaso renal, que requieren ventilación mecánica, catecolaminas o ambas y que no requieren TRR urgente. En él se diseñaron 2 grupos: uno de estrategia precoz donde la TRR se realizó inmediatamente tras la randomización, otro de estrategia tardía donde la TRR se inició cuando algunos de los criterios de inicio urgente se dieron: hiperpotasemia severa, acidosis metabólica, edema pulmonar, BUN > 112 mg/dl o oliguria > 72 h post-randomización. Las terapias utilizadas fueron hemodiálisis intermitente en el 50% de los pacientes, y solo recibieron TCRR como primera terapia el 30% de ellos. La mortalidad a los 60 días, objetivo primario del estudio, no fue significativamente distinta entre grupos. Destaca en los resultados que el 50% de los pacientes del grupo de estrategia tardía no requirió TRR. Una vez más, no se demostraron diferencias en los grupos con fracaso renal establecido, entre los dializados de forma precoz y tardía, y si que destaca que la mitad de los pacientes del grupo tardío recuperaron función renal sin necesidad de TRR al darles tiempo para ello, haciendo énfasis en el no beneficio del inicio precoz en la sepsis.

El estudio de *Zarbock et al* en 2016 (251), randomizado de 231 pacientes críticos postquirúrgicos con fracaso renal que se incluyeron en dos grupos: inicio precoz de TCRR (a las 8h del diagnóstico de FRA estadio 2 según KDIGO) frente a inicio tardío (a las 12h del estadio 3 de FRA según KDIGO) o no inicio de TCRR. Los criterios de inclusión fueron: el estadio 2 de FRA, reanimación hemodinámica completada, NGAL (lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos) plasmático > 150 ng/ml y al menos 1 de los siguientes: sepsis grave, uso de vasopresores o catecolaminas > 0,1 µg/kg/min, edema agudo de pulmón, PaO₂/FiO₂ < 300, SOFA > 2. Se excluyó el fracaso renal crónico y el uso previo de TRR, entre otros. La mayoría de los pacientes fueron postquirúrgicos de cirugía cardíaca, seguidos de postquirúrgicos de cirugía abdominal y de neurocirugía.

La terapia usada fue TCRR en todos ellos, con dosis de diálisis más convección de 30 ml/kg, el anticoagulante utilizado fue el citrato regional. Se analizaron IL-6 IL-8 e IL-18 en sangre en ambos grupos a las 6h de TRR (24h post-randomización); los niveles de ambas fueron significativamente más bajos en el grupo de inicio precoz, y ambas se asociaron con mortalidad en la regresión logística. El inicio precoz se asoció a reducción de manera significativa de la mortalidad a los 90 días (objetivo primario) y reducción de la duración de TRR, mejoría de la recuperación de la función renal a los 90 días, reducción de la duración de la ventilación mecánica, y reducción de la estancia hospitalaria. En este estudio se pone en evidencia la utilidad de combinar los criterios clínicos de fracaso renal con un biomarcador como el NGAL, considerado buen predictor de necesidad de TRR (252). Tan solo 5% de los pacientes del grupo de inicio tardío no recibieron RRT por recuperación espontánea o muerte. Aunque centrado en población quirúrgica, se pone de manifiesto que puede existir beneficio de las TRR usadas precozmente en

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

la sepsis teniendo en cuenta un estadio 2 de FRA junto con elevación del NGAL y otra disfunción orgánica en el paciente, distinta de la renal.

El estudio de *Barbar et al* 2018 (253), multicéntrico randomizado controlado, incluyó a 488 pacientes críticos médico-quirúrgicos con fracaso renal agudo y shock séptico en fase precoz (definida por 48h tras el inicio de fármacos vasoactivos). Se establecieron 2 grupos: Estrategia precoz: inicio TRR 12h tras documentación de FRA estadio “failure” de la clasificación RIFLE (254), que equivale al estadio KDIGO 3 frente a estrategia tardía con inicio TRR tras 48h si no ocurre recuperación del FRA. El estudio se paró por futilidad después de un análisis interno. No se encontraron diferencias para el objetivo primario de mortalidad a los 90 días, y en el grupo de estrategia tardía 38% de los pacientes no recibió TRR, mientras que el 17% requirió TRR de forma urgente (más de la mitad fallecieron). Tampoco existieron diferencias significativas en términos de días libres de ventilación mecánica o necesidad de vasopresores, estancia en UCI u hospitalaria, o dependencia de TRR en los supervivientes.

El estudio de *Bagshaw et al* STARRT-AKI 2020 (255), multicéntrico randomizado controlado, incluyó 2927 pacientes críticos con fracaso renal agudo (KDIGO 2 y 3). Se diseñaron 2 grupos, con 57% de enfermos sépticos en cada grupo. Uno con estrategia acelerada y TRR 12h tras cumplir criterios inclusión y el otro con estrategia estándar y TRR retrasada hasta indicaciones convencionales o FRA > 72h. No se encontraron diferencias en el objetivo primario que fue mortalidad a los 90 días. La dependencia de la diálisis entre los supervivientes fue más alta en el grupo de estrategia acelerada, de igual manera que los eventos adversos. En el análisis por subgrupos, entre los pacientes sépticos, los datos fueron los siguientes: la estrategia acelerada mostró una Odds ratio de 95% (IC₉₅ 0,78-1,189) y la estándar 1,21 (IC₉₅ 0,95-1,54).

Así pues, a pesar de la heterogeneidad entre los distintos estudios respecto a las diferentes definiciones para precoz y tardío, las distintas TRR aplicadas (intermitente, continua, difusión y/o convección) y las distintas poblaciones incluidas (postquirúrgicos, médicos), se puede concluir que: sigue siendo un reto para la medicina intensiva predecir que paciente séptico va a requerir TCRR y se va a beneficiar de un inicio precoz; la aplicación precoz de las TRR solo parece justificada por la literatura en el caso de pacientes quirúrgicos que desarrollan fracaso renal agudo; los grupos de aplicación tardía de la terapia ponen de manifiesto que hay pacientes que recuperan por si solos la función renal, el reto está en la identificación de estos últimos. Por otra parte la gravedad clínica de los pacientes en shock séptico es máxima, y el inicio de forma urgente de las TRR se asocia a una alta mortalidad como en el estudio de *Barbar et al* (253), hecho también a tener en cuenta al tratarse de un sistema de circulación extracorpórea, pues puede colocarse de manera relativamente programada y no urgente.

Por último, reafirmando las guías KDIGO 2012, las recomendaciones de la asociación de expertos publicadas por *Vinsonneau et al* en 2015 (256) reconocen que hay datos insuficientes como para definir el momento óptimo para el inicio de las TRR, salvo las situaciones de urgencia vital.

1.2.5 DOSIFICACIÓN

Otra pregunta importante en cuanto al soporte renal, es la dosis de diálisis que se va a aplicar en la terapia. A lo largo de las últimas décadas han sido varios los estudios que se han realizado con el objetivo de evaluar posibles beneficios de dosis elevadas, la denominada hemofiltración de alto volumen. Dos grandes estudios multicéntricos randomizados, “RENAL “ de *Bellomo et al* (257) y “ATN “ de *Palevsky et al* (258) no encontraron diferencias en términos de mortalidad, ni mejoría de la recuperación de la función renal, comparando dosis estándares frente a dosis más altas, sin beneficios tampoco en los subgrupos de pacientes sépticos. Las dosis comparadas en RENAL fueron 25ml/kg/h vs 40 ml/kg/h y las dosis comparadas en el ATN: 20 ml/kg/h vs 35 ml/kg/h (Ver figura 10). En estos dos estudios se puso de manifiesto que los pacientes reciben un 10-15% menos de la dosis que se prescribe por pérdidas de tiempo (“downtime”) de terapia efectiva (por desconexiones de la terapia, traslados del paciente, cambio de bolsas, entre otros), hecho a tener en cuenta a la hora de prescribir la dosis de la terapia.

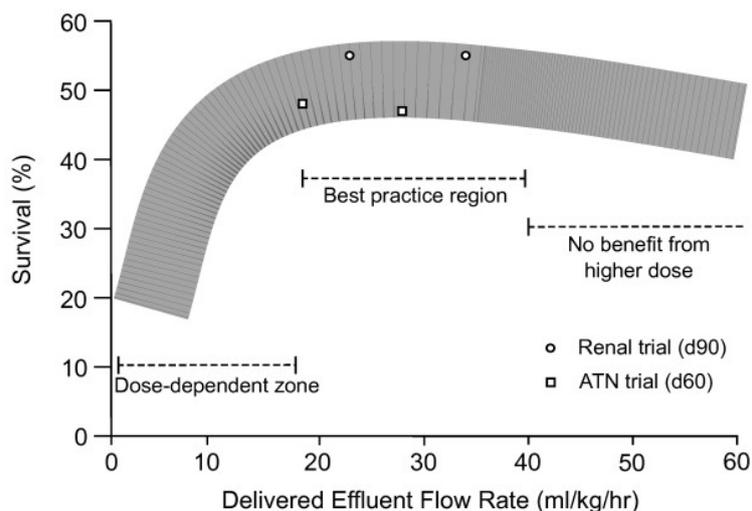


Figura 10. Relación entre la dosis administrada de TRR y la supervivencia con los resultados de los estudios ATN y RENAL.

Extraído de Prowle et al (259). Quedan representados los estudios más relevantes en cuanto a la dosis óptima de TRR y su repercusión sobre la dosis sobre la supervivencia de los pacientes, definiendo una zona de buena práctica clínica que se sitúa entre 20-25 ml/kg/h. Por debajo de esa dosis no se alcanzarían resultados óptimos en cuanto a limpieza de solutos, y por encima de ella no se ha demostrado beneficio en términos de mayor supervivencia (259).

Posteriormente, en el estudio IVOIRE (260) centrado en el paciente séptico, se valora el beneficio de la hemofiltración de alto volumen vs volumen estándar en pacientes con shock séptico con lesión renal aguda, con el objetivo primario de determinar el impacto de la hemofiltración de alto volumen en la mortalidad a los 28 días. Se trata de un ensayo clínico prospectivo, aleatorizado, abierto y multicéntrico, en 18 unidades de cuidados intensivos europeas, que incluye 140

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

pacientes con shock séptico de menos de 24h de evolución y FRA estadio Injury, según clasificación RIFLE (aumento de Cr x2 diuresis < 5ml/kg/h en 12h) (254). Se establecieron 2 grupos en función de la dosificación : 70 ml/kg/h de TCRR vs estándar 35 ml/kg/h durante 96 h. No hubo diferencias en la mortalidad ni en ninguno de los objetivos secundarios (mejoría de los fracasos orgánicos, duración de ventilación mecánica, duración de la TRR, mortalidad a los 60 y 90 días) entre los dos grupos. Tampoco hubo diferencias en cuanto a los eventos adversos más frecuentes (hipokaliemia, hipopotasemia, hipofosfatemia).

En este sentido, las guías KDIGO de 2012 recomiendan que se ajuste la terapia de manera dinámica para las necesidades diarias que requiera el paciente para lograr los objetivos buscados (control de electrolitos, balance de fluidos, equilibrio ácido-base), prescribiendo 20-25ml/kg/h de volumen de efluente y asumiendo que esta prescripción va a requerir dosis superiores (190).

Las recomendaciones de expertos en 2015 establecieron que la mínima dosis prescrita debe ser de 20-25 ml/kg/h con filtración o diálisis (256). Por último, las conclusiones derivadas de la conferencia KDIGO de 2019 (261) siguen manteniendo las mismas recomendaciones en cuanto a la dosis de 20-25 ml/kg/h.

2 HIPÓTESIS

Las TRR, concretamente las TCRR, pueden aclarar las moléculas proinflamatorias, incluidos nucleosomas y HMGB1, de la circulación sanguínea en los pacientes con shock séptico y, en consecuencia, modular la respuesta exagerada inmunológica o tormenta citoquímica, clave en el desarrollo de la disfunción multiorgánica.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRIMARIO

Conocer la evolución de las concentraciones sanguíneas de PCT, PCR, IL-6, nucleosomas y HMGB1 en pacientes en shock séptico con FRA durante las primeras 24h de TCRR.

3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Analizar la concentración de nucleosomas, HMGB1, PCT, IL-6 y PCR, y su evolución en las primeras 24h de TCRR en función del tiempo de evolución de la sepsis y del control del foco séptico.
2. Evaluar la relación entre nucleosomas, HMGB1, PCT, IL-6, PCR y las disfunciones orgánicas, mediante la escala SOFA y los ítems que engloba (función cardiovascular, hepática, respiratoria, renal y de coagulación), así como evaluar la relación entre los propios biomarcadores.
3. Evaluar la mortalidad de los pacientes en shock séptico con FRA sometidos a TCRR en UCI, hospitalaria y a los 28 días (desde el ingreso en UCI) en función de las concentraciones de biomarcadores en las primeras 24h de TCRR.

4 MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional prospectivo longitudinal realizado en el Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Dr. Peset de Valencia desde diciembre 2016 a enero 2020.

4.2 POBLACION DE ESTUDIO

Pacientes ingresados en servicio de Medicina Intensiva del Hospital Dr. Peset con diagnóstico de shock séptico y FRA, sometidos a TCRR.

4.3 TAMAÑO MUESTRAL

No existe literatura al respecto de la posible eliminación de proteínas nucleares mediante las técnicas continuas de remplazo renal, que suponemos posible dado el bajo peso molecular de estas (10-15 KDa). Se incluirán 30 pacientes de manera consecutiva, en base a criterios de incidencia en el Servicio de Medicina Intensiva de dicha patología.

4.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios inclusión	Criterios exclusión
Pacientes mayores de 18 años	Pacientes cuyo seguimiento no sea posible realizarlo
Ingresados en el Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Universitario Dr Peset de Valencia	Pacientes que pertenezcan a otros estudios clínicos
Que requieran terapias continuas de remplazo renal a criterio del facultativo responsable según guías de práctica clínica	Pacientes con insuficiencia renal crónica previa, inmunodeprimidos o politraumatizados
Que cumplan criterios diagnósticos de shock séptico según Tercera definición (Sepsis-3) de <i>Singer et al</i> (1)	Pacientes con neoplasias sólidas o hematológicas activas

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

Que acepten ser incluidos tras firma de consentimiento informado por el propio paciente o por el representante legal o familiar	Pacientes que rechacen participar en el estudio
Cuya previsión de ingreso en UCI sea mayor de 48h	

Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión de los pacientes.

Se detallan los criterios de inclusión que debían cumplir todos los pacientes para participar en el estudio, y ninguno de los criterios de exclusión.

4.5 MATERIAL Y TÉCNICA DE REPLAZO RENAL

4.5.1 MATERIAL

Máquina de hemodiálisis continua Multifiltrate® de Fresenius Medical Care.

Filtros EMIC-2® de Fresenius Medical Care (tamaño de 50cm x 25cm x 10 cm): Filtro Ultraflux® polisulfona biocompatible semipermeable de 1,8 m² de superficie con punto de cribado de hasta 40KDa, esterilizado por vapor en línea (conectores Luer-Lock), que requiere cebado de 130 ml de volumen sanguíneo, con espesor de pared/diámetro interno de 35/220 µ, carcasa de policarbonato y poliuretano como material de sellado. Tasa de ultrafiltrado recomendada de máximo 20% del flujo de sangre efectivo en post-dilución.

Fungible: cassette multifiltrate Cica® de Fresenius Medical Care compuesto por: Línea arterial con cámara de expansión arterial; Línea venosa con cámara cazaburbujas venosa; Línea de efluente; Líneas para monitorizar presiones: arterial, venosa, PTM (presión transmembrana), pre-filtro y efluente; Líneas de anticoagulación para citrato y para calcio integradas; Bolsa para líquido de cebado (1L); Pinza y adaptador para recirculación; Línea de diálisis con cámara calentador integrada.

Líquido de diálisis Cica® Dyalisate Plus K2, solución salina estandarizada para diálisis, en bolsa de doble cámara: el compartimento pequeño contiene 250 ml de solución ácido y el compartimento grande contiene 4750 ml de solución de bicarbonato. La soldadura interna entre los dos compartimentos permite una mezcla de segura de 48h de estabilidad tras su mezcla. Envasado estéril en lámina de Biofine® como barrera de gas. Su composición es la siguiente: sodio 133 mmol/L, potasio 2 mmol/L, magnesio 1 mmol/L, cloruro 117,75 mmol/L, bicarbonato 20 mmol/L, fosfato 1,25 mmol/L, glucosa 1 g/l.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Anticoagulación con citrato trisódico al 4% ($\text{Na}_3\text{Citrato}$ 40g/l + Ionos de citrato 136mmol/L) en bolsa de 1,5L Solución de calcio para infusión sistémica (cloruro cálcico a concentración de 97 mmol/L).

4.5.2 TÉCNICA DE DIALIZACIÓN

Todos los pacientes fueron dializados con equipo multifiltrate de Fresenius®, con filtro Emic2®, y con anticoagulación regional con citrato, con ajustes para lograr objetivos de:

- Rango óptimo de calcio iónico post-filtro: 0,25-0,34 mmol/L
- Rango óptimo de calcio iónico sistémico: 1,12-1,20 mmol/L

Peso corporal	Dosis diálisis	Flujo de sangre	Dosis citrato	Dosis calcio
< 60 kg	1600 ml/h	80 ml/min	4,0 mmol/L	1,7 mmol/L
60-90 kg	2000 ml/h	100 ml/min	4,0 mmol/L	1,7 mmol/L
> 90 kg	2400 ml/h	120 ml/min	4,0 mmol/L	1,7 mmol/L

Tabla 6. Configuración inicial de los tratamientos de hemodiálisis con citrato en equipo Multifiltrate®.

Configuración inicial en cuanto a dosis flujos y concentraciones de citrato y calcio, la dosis de diálisis fue ajustada según peso.

En los casos de alteración del equilibrio ácido base (alcalosis o acidosis metabólica) se modificó temporalmente el flujo de citrato según criterio clínico del facultativo responsable: de tal forma que se aumentó para lograr alcalinización y se redujo para lograr acidificación, atendiendo a que 1 mmol de citrato se convierte en 3 mmoles de bicarbonato.

Las dosis de extracción (balance negativo) se ajustó en función de las necesidades del paciente, valorado en cada caso por el facultativo responsable (según monitorización hemodinámica, situación respiratoria, balance hídrico acumulado, entre otros).

El mecanismo de depuración utilizado fue la difusión, dadas las características de la membrana usada, siguiendo recomendaciones del fabricante, sin usar líquidos de reposición.

El momento de inicio de las TCRR fue elegido libremente por el facultativo responsable.

Se canalizaron catéteres venosos de 13F para el circuito extracorpóreo, de elección en vía yugular derecha seguido de femoral derecha.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Los controles habituales para ajustes de citrato y calcio se realizaron antes de conectar al paciente a la máquina (gasometría arterial), a los 5 minutos de inicio de la terapia (calcio post-filtro, calcio y pH sistémico), y cada 6h (calcio post-filtro, calcio y pH sistémico), según práctica habitual.

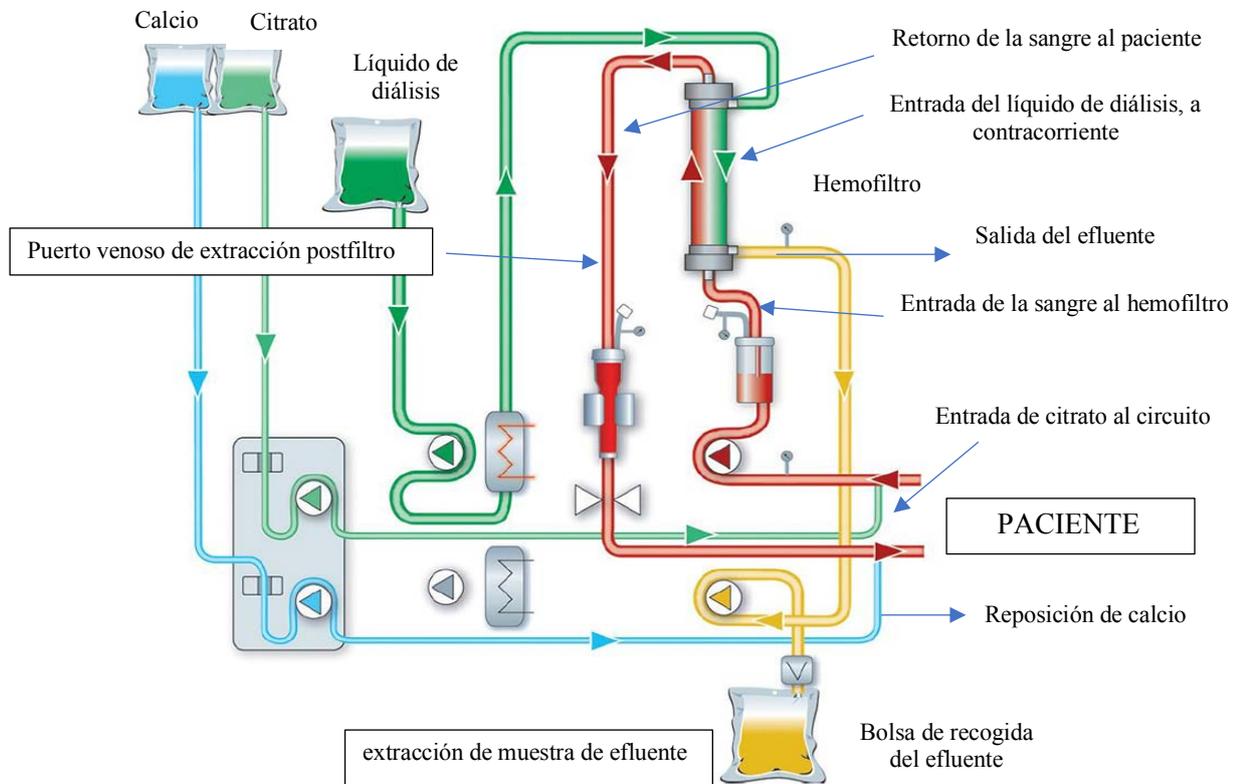


Figura 11. Esquema del mecanismo dialítico y de la anticoagulación regional con citrato calcio.

Adaptado de <https://www.freseniusmedicalcare.com>. (262). La sangre sale del paciente a través del catéter venoso gracias a la bomba de sangre, pasa por el cazaburbujas arterial para proteger al hemofiltro de las burbujas de aire y coágulos. Una vez en el hemofiltro, la sangre llena todos los capilares, y a contracorriente el líquido de diálisis impregna todo el hemofiltro alrededor de los capilares, es entonces cuando el mecanismo difusivo, a través de la membrana de los capilares y sus poros, ejerce la acción depurativa de solutos. Gracias al gradiente transmembrana, moléculas de pequeño y mediano tamaño hasta alrededor de los 40 KDa son empujadas hacia el exterior de los capilares, mecanismo favorecido por la acción de la bomba del efluente que provoca presión negativa en el hemofiltro y se encarga de recoger el líquido de diálisis "sucio" además del balance negativo deseado. Una vez depurada, la sangre sale por el extremo opuesto del hemofiltro, y es devuelta al paciente.

4.6 VARIABLES ANALIZADAS

- Demográficas: Se utilizaron la edad (en años) y el sexo (masculino y femenino).
- Comorbilidades: Se tuvo en cuenta la presencia de hipertensión arterial (HTA), Diabetes Mellitus (DM), dislipemia (DL), cardiopatía isquémica crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades autoinmunes (EA), y por último se recogió el Índice Charlson de comorbilidad, como estimación del riesgo de muerte en función de las comorbilidades (263).
- Índice de gravedad: Los scores APACHE II (264) y SOFA al ingreso se utilizaron para determinar la gravedad de los pacientes, así como también SOFA previo al inicio de la TCRR y a las 24h y todas las variables clínicas que se utilizan en su cálculo, tales como dosis de fármacos inotrópicos/vasopresores en $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, bilirrubina total plasmática (mg/dl), cifra de plaquetas (c/mm^3), escala de coma de Glasgow, creatinina sérica (mg/dl) y relación $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$.
- Otras de terminaciones analíticas realizadas por el laboratorio del Hospital Universitario Dr Peset de Valencia: Se determinaron la concentración de lactato, el pH sanguíneo arterial, el calcio iónico y la concentración de urea plasmática antes del inicio de las TCRR y a las 24h.
- Estadio de fracaso renal: Se utilizó la escala KDIGO para determinar el fracaso renal de los pacientes antes del inicio de las TCRR.
- Inicio de las TCRR: Se consideró el intervalo de tiempo en horas entre el inicio de apoyo vasopresor con fármacos y el inicio de las TCRR.
- Parámetros de las TCRR: Se recogieron datos de las dosis de diálisis utilizadas, de extracción y de citrato utilizadas, así como del flujo de sangre pautado y la extracción realizada. Se recogió el tiempo de funcionamiento del filtro a las 24h de terapia. Se recogieron los distintos volúmenes de efluente de los que extrajeron las muestras de efluente a la hora del inicio de las TCRR. Se recogieron los datos de balances hídricos de los pacientes del 1er día de TCRR, así como también el volumen de diuresis en el 1er día.
- Variables asociadas a la sepsis: Se recogieron datos relativos a la etiología: foco, microorganismo responsable y presencia o no de bacteriemia secundaria. El control de foco se consideró adecuado siguiendo los criterios de las guías de la Surviving Sepsis Campaign: realización de diagnóstico anatómico específico y valoración de posibles intervenciones urgentes de drenaje de abscesos, desbridamiento de tejidos necróticos infectados, entre otros, así como retirada de dispositivos intravasculares identificados como posible foco (23).
- Biomarcadores: Se analizaron PCT, PCR, IL-6, nucleosomas y HMGB1, en los distintos tiempos (T0, T1 y T2) (Ver definición de Tiempos en apartado siguiente 4.7.1).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Variables de mortalidad: Se recogió la mortalidad de los pacientes durante su ingreso en UCI, durante la estancia hospitalaria y a los 28 días, así como la estancia en UCI en días.

4.7 ANÁLISIS DE BIOMARCADORES

4.7.1 EXTRACCIONES Y TIEMPOS

Dado que el objetivo principal del estudio es conocer la evolución de las concentraciones sanguíneas de distintos biomarcadores inflamatorios en las primeras 24h de TCRR, se definieron distintos tiempos para valorar su evolución: antes de iniciar la diálisis (T0) y a las 24h (T2).

Entre los mecanismos de eliminación de moléculas con las TCRR (descritos en el apartado 1.2.1) se encuentra la adsorción: esta es máxima en las primeras horas de funcionamiento de las membranas de diálisis para distintos biomarcadores (IL-6, TNFa, PCT) (136), ocurre especialmente con las proteínas de pequeño tamaño que se adhieren a la superficie de la membrana (152), y se ha descrito en distintos tipos de membranas (138).

Para el estudio de nucleosomas hipotetizamos un posible mecanismo de adsorción inicial al ser estructuras proteicas de pequeño tamaño, teniendo en cuenta la carga positiva de las histonas (265) y la carga negativa de las membranas de diálisis (233). Por estas razones, se decidió extraer muestras sanguíneas a la hora de iniciada la diálisis, pre-filtro post-filtro y de efluente, para el estudio de su posible mecanismo depurativo, definiendo T1 pre-filtro post-filtro y efluente (Ver Figura 11). Se obtuvo del pre-filtro, post-filtro y de la bolsa de recogida del efluente, una cantidad de 5ml de sangre por cada extracción sanguínea y 17 ml de líquido de efluente. Las extracciones a través del catéter arterial radial se realizaron desechando 3ml de sangre para evitar una dilución de la muestra.

En el tiempo 0 (T0), 1h previo al inicio de las TCCR, la extracción se realizó a través del catéter arterial radial, con sistema Vacutainer® para rellenar con 5 ml de sangre 2 tubos con EDTA (etilendiaminotetraacetato) y 1 tubo con separador de gelosa se realizó extracción de sangre.

Se analizaron: PCT a partir del tubo con EDTA, nucleosomas y HMGB1 a partir del otro tubo de EDTA, PCR e IL-6 a partir del tubo con separador de gelosa.

En el tiempo 1 (T1), a los 60 minutos de inicio de la TCRR, se extrajeron las siguientes muestras: T1 pre-filtro (T1pre): A través de sangre del catéter arterial radial se realizó extracción de 5 ml de sangre con sistema Vacutainer® para rellenar tubo con EDTA para análisis de nucleosomas circulantes.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

T1 post-filtro (T1post): A través del puerto de extracción posterior al hemofiltro (ver Figura 9) mediante punción se realizó extracción de sangre con jeringa de 5 ml para rellenar tubo con EDTA para análisis de nucleosomas circulantes.

T1 Efluente: A través del grifo del sistema de recogida de la bolsa de efluente, tras agitar la bolsa para su correcto mezclado, se extrajeron 17 ml líquido con sistema de recogida de orina estéril para rellenar 2 tubos con 8,5 ml cada uno de líquido para análisis de nucleosomas circulantes.

En el tiempo 2 (T2) a las 24h de funcionamiento del hemofiltro a través del catéter arterial radial, se realizó extracción de sangre con sistema Vacutainer® para rellenar con 5 ml de sangre 2 tubos con EDTA (etilendiaminotetracetato) y 1 tubo con separador de gelosa. En T2 se analizaron: PCT a partir del tubo con EDTA, nucleosomas y HMGB1 a partir del otro tubo de EDTA, PCR e IL-6 a partir del tubo con separador de gelosa.

El resto de determinaciones analíticas se realizaron según práctica habitual, y fueron realizadas de la siguiente manera en todos los pacientes: Al ingreso del paciente en UCI: Analítica completa (hemograma coagulación y bioquímica completa con función hepática) junto con gasometría arterial. En T0 se realizó de nuevo analítica completa junto con gasometría arterial, previo a la conexión del hemofiltro. En T2 se realizó nueva analítica completa junto con gasometría arterial.

4.7.2 ANÁLISIS DE PCT

Por laboratorio de análisis clínicos del Hospital Dr. Peset de Valencia, según técnica habitual.

Se realizó determinación cuantitativa a partir del tubo con EDTA, mediante analizador AQT90 FLEX (Radiometer, Copenhague, Denmark). Analizador automático, de carga continua, que utiliza tecnología de inmunoensayo y detección mediante fluorimetría de resolución temporal.

Componentes reactivos: anticuerpos monoclonales anti-PCT de ratón captadores aprox 400ng/pocillo, anticuerpos monoclonales anti-PCT de ratón trazadores aprox 270ng/pocillo, PCT recombinante (solo en 8 pocillos del cartucho CAL con antígeno añadido aprox 0,13 ng/pocillo).

Componente buffer principal TRIS (Tris hidroximetilaminometano).

Datos extraídos del kit de Test de PCT e instrucciones de uso de AQT90 FLEX.

4.7.3 ANÁLISIS DE PCR

Por laboratorio de análisis clínicos del Hospital Dr. Peset de Valencia, según técnica habitual. Se realizó determinación cuantitativa a partir del tubo con separador de gelosa, con centrifugado a 3500 rpm 5 minutos y posterior análisis en suero con módulo de inmunoensayo Architect de Abbot mediante método inmunoturbidimétrico.

4.7.4 ANÁLISIS DE IL-6

Por laboratorio de análisis clínicos del Hospital Dr. Peset de Valencia, según técnica habitual. Se realizó determinación cuantitativa a partir del tubo con separador de gelosa, con centrifugado a 3500 rpm 5 minutos y posterior análisis en suero con módulo e601 de Cobas de Roche, mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia.

4.7.5 ANÁLISIS DE NUCLEOSOMAS

Para el análisis de nucleosomas, a partir del tubo con EDTA se realizó centrifugado a 3500 rpm durante 10 min, seguido de pipeteado de plasma y congelación de alícuotas en ultracongelador a -80°C, para análisis posterior. Las muestras se descongelaron en cámara fría a 4°C.

Para el análisis se utilizó un ELISA “home-made”: formato sándwich usando anticuerpos de captura y detección desarrollados en colaboración con el grupo de inmunotecnología del Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B) de la Universidad Politécnica de Valencia. El anticuerpo de detección fue previamente conjugado a peroxidasa usando HRP Conjugation Kit (Abcam, Cambridge, UK) siguiendo instrucciones del fabricante. Para el inmunoensayo, se utilizó un volumen de 100 µL por pocillo para todos los pasos del ensayo. Después de cada tiempo de incubación, las placas fueron lavadas 4 veces con tampón de lavado (PBS con 0,005 Tween 20). Primero, las placas de ELISA (Costar #3590, Corning, NY, USA) fueron recubiertos durante una noche a temperatura ambiente, con anticuerpo primario a 2 µg/mL en 50 mM de tampón de carbonato (pH 9,6). Luego, las muestras de plasma se diluyeron 1:5 en tampón de ensayo y fueron incubadas durante 1h. Tras el lavado, se incubaron con anticuerpo secundario de detección a 0,5 µg/mL en tampón de ensayo y se incubó durante 1h. finalmente la actividad de la peroxidasa se determinó añadiendo la solución sustrato (2mg/ml ofenilenediamina y 0,0012 % H₂O₂ en 25 mM citrato-62 mM fosfato, pH 5,3. Después de 10 min, la reacción se paró con 2,5 M de ácido sulfúrico, y la absorbancia a 490 nm se leyó mediante *SpectraMax 190 microplate reader* (Molecular Devices, San José, CA, USA).

4.7.6 ANÁLISIS DE HMGB1

Para el análisis de HMGB1, se tomaron 70 µl de plasma obtenidos del mismo modo descrito en el punto anterior, y se diluyeron con 30 µl del tampón proporcionado por el kit utilizado, HMGB1 ELISA (IBL; Alemania). Seguidamente se procedió a seguir el protocolo recomendado por el fabricante utilizando el método sensitivo con una curva patrón de 0 a 10 ng/ml. La absorbancia se midió en el lector de placas *SpectraMax Plus 384* (Molecular Devices: EEUU) y la concentración se calculó mediante interpolación de los valores de absorbancia en una recta patrón.

4.8 CONSENTIMIENTO INFORMADO

Tras cumplir los criterios de inclusión se solicitó consentimiento informado al paciente o en su defecto a los familiares y/o responsables legales. Los datos obtenidos se mantendrán bajo estricta confidencialidad según los criterios establecidos en la Ley Orgánica 15/1989 de protección de datos de carácter personal (LOPD), además de la Declaración de Helsinki, Seúl 2008 y las Directrices para la buena práctica clínica (CPMP/ICH/135/95)

El estudio fue analizado y aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Dr. Peset de Valencia, código 125/15.

4.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa estadístico IBM SPSS v26. Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los datos demográficos, comorbilidades asociadas, escalas de gravedad a su ingreso en UCI y escalas de fracaso orgánico en ambos tiempos (T0 y T2) de la muestra estudiada, utilizando la media y desviación estándar (DS) para las variables paramétricas y la mediana y el rango intercuartílico para las variables no paramétricas. De igual manera, las características del shock séptico, los parámetros de la técnica de TCRR y la evolución de los distintos biomarcadores en T0 y T2 fueron analizadas de forma descriptiva.

Posteriormente se realizó un estudio comparativo entre ambos tiempos T0 y T2 de todos los biomarcadores, además, los nucleosomas se compararon entre los tiempos T0, T1pre T1post y T2. Se realizó comparación de las disfunciones orgánicas entre T0 y T2. Para explorar la normalidad de la distribución de las variables se aplicó el test de Kolmogorov Smirnov. Para las variables de distribución normal el test estadístico utilizado fue la t de Student para muestras relacionadas. Para las variables de distribución no normal, el test no paramétrico utilizado fue la prueba de Wilcoxon para muestras apareadas y la prueba de Mann-Whitney para muestras independientes. Para detectar cambios significativos de nucleosomas en los distintos tiempos se utilizó un modelo ANOVA de medidas repetidas. Para examinar la intensidad de asociación entre variables cuantitativas (biomarcadores y disfunciones orgánicas en T0 y en T2), se utilizó el método no paramétrico de correlación de Rho de Spearman, determinando el coeficiente de correlación y su significación estadística. También se realizó análisis de diferencias entre biomarcadores de pacientes en los que existió control de foco séptico vs los que no se controló el foco séptico, para ello, se utilizó para las variables de distribución normal el test paramétrico t de Student para muestras no apareadas, y para las variables de distribución no normal el test no paramétrico U de Mann-Whitney. Se realizó mismo análisis para otros subgrupos, tales como estadio de FRA KDIGO 2 vs KDIGO 3, tiempo de evolución de sepsis (definido por tiempo desde

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

inicio de soporte vasopresor) > 24h vs tiempo < 24h. De igual manera se realizó análisis de las posibles diferencias de biomarcadores entre T0 vs T2 separando los pacientes en los mismos grupos que anteriormente. Para ello se utilizó para las variables de distribución normal, el test paramétrico t de Student para muestras apareadas, y para las variables de distribución no normal el test no paramétrico de Wilcoxon. Se analizaron los distintos biomarcadores en función de la mortalidad de los pacientes, para detectar si existían diferencias entre los pacientes fallecidos y los supervivientes, tanto en la UCI como en el hospital y a los 28 días. Para ello se utilizó el test paramétrico T de Student para muestras no relacionadas para las variables de distribución normal, y el test no paramétrico para muestras no relacionadas U de Mann Whitney para las variables de distribución no normal.

5 RESULTADOS

Tras cumplir criterios de inclusión y ninguno de exclusión, se reclutaron en total 30 pacientes, de forma consecutiva desde diciembre 2016 hasta enero 2020, de los cuales finalmente se excluyó el primero por mal etiquetado de las muestras. Dos pacientes fallecieron antes de completar 24h de TCRR, con lo cual no se pudieron extraer las analíticas correspondientes al tiempo T2.

5.1 CARACTERÍSTICAS DEMÓGRAFICAS, CLÍNICAS Y SCORES DE GRAVEDAD DE LOS PACIENTES

La edad media de los pacientes fue de 67 años, con predominio del sexo masculino (76% de los casos), el índice Charlson de comorbilidades fue de 2 (0-5) y las escalas APACHE II y SOFA al ingreso fueron respectivamente de 28 ± 10 y de 11 ± 3 . La gravedad estimada de los pacientes a las 24h según la escala APACHE II situó a los pacientes en una franja de mortalidad estimada del 55%. Las comorbilidades más frecuentes fueron: hipertensión arterial (presente en un 62% de los pacientes), seguido de dislipemia (48%) diabetes mellitus (41%), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (17%), y cardiopatía isquémica crónica (14%) (Tabla 7).

Características	Global (n= 29)
Edad, años ^a	67 \pm 14
Sexo, varón n (%)	22 (76%)
Índice Charlson ^b	2 (0-5)
APACHE II ^a	28 \pm 10
SOFA al ingreso ^a	11 \pm 3
Hipertensión arterial, n (%)	18 (62%)
Diabetes Mellitus, n (%)	12 (41%)
Dislipemia, n (%)	14 (48%)
Cardiopatía isquémica, n (%)	4 (14%)
EPOC, n (%)	5 (17%)

Tabla 7. Características demográficas, comorbilidades y gravedad de los pacientes al ingreso en la UCI.

Se describen las características más importantes de los pacientes mediante porcentaje %, ^a Media y DS, o ^b Mediana y rango intercuartílico, del global de pacientes.

5.2 CARACTERÍSTICAS DE LA INFECCIÓN

Todos los pacientes fueron diagnosticados de shock séptico, según criterios de Singer et al (1). El origen de la sepsis más frecuente fue el abdominal (38%), seguido del respiratorio (21%) y urológico (17%); otros focos por orden de frecuencia fueron: origen desconocido (10%), endocarditis infecciosa (7%), piel y partes blandas (7%) (Figura 12A). La sepsis fue provocada en la mayoría de pacientes por microorganismos gram-negativos (53%) seguido de gram-positivos (34%). Entre los gram-negativos, los aislamientos más frecuentes fueron *Escherichia coli* (5 pacientes, 17% del total), entre los gram-positivos los más frecuentes fueron *Staphylococcus aureus* (3 pacientes, 10 % del total). Hubo un 10% de pacientes donde no se aisló microorganismo responsable y un 3% de las sepsis fue de origen fúngico (Figura 12B).

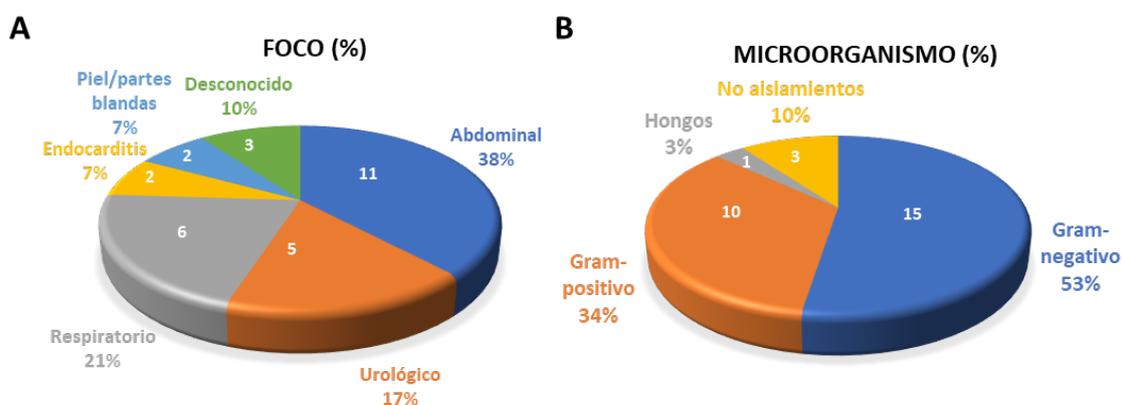


Figura 12. Características de la infección.

(A) Porcentaje de casos con origen del foco en los sistemas indicados. El número del interior del gráfico representa los casos totales. (B) Porcentaje de casos en los que se pudo identificar el microorganismo responsable de la infección. El número del interior del gráfico representa los casos totales. Gram-negativo: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Haemophilus influenzae*; Gram-positivo: *Bacillus spp*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus schleiferi*, *Staphylococcus aureus*, *Bifidobacterium longum*, *Clostridium difficile*, *Enterococcus faecium*; Hongos: *Candida albicans*; No aislamientos: pacientes en los que no se consiguió aislar microorganismos.

Se logró control del foco séptico previo a la conexión al hemofiltro en 21 (72%) de los pacientes, no siendo posible en 8 pacientes (28%). La sepsis cursó con hemocultivos positivos en 8 pacientes (28%), correspondiéndose con bacteriemias secundarias al foco séptico.

5.3 PARÁMETROS DE LAS TCRR APLICADAS, ESTADIO DEL FRACASO RENAL E INICIO DE LAS TCRR

El tiempo de evolución de la sepsis al inicio de las TCRR fue de 24h (15-48) (definido como el tiempo transcurrido desde el inicio de los fármacos vasopresores). En el 79% de los pacientes se iniciaron las TCRR en estadio 3 según KDIGO, el 21% presentaron estadio 2 KDIGO. La dosis media de diálisis en T1 fue de 24ml/kg/h (± 3), con flujo de sangre de 100ml/h (100-120) con 0 ml/h de extracción de líquido en T1 (Tabla 8).

Características de las TCRR	Frecuencia (%)
Inicio de las TCRR (horas) ^a	24 (15-48)
Estadio 2 KDIGO	6 (21%)
Estadio 3 KDIGO	23 (79%)
Dosis de diálisis T1 ^b (ml/kg)	24 \pm 3
Dosis de extracción T1 ^a (ml/h)	0 (0-50)
Flujos de sangre (ml/min) ^a	100 (100-120)

Tabla 8. Características de las TCRR y estadio del fracaso renal.

Se describen las características de las TCRR usadas en los pacientes, dosis en ml/kg o ml/h, flujos en ml/min, estadios de fracaso renal según KDIGO y tiempo de inicio en horas, mediante porcentaje (%) ^a mediana y rango intercuartílico o media \pm DS ^b.

5.4 EVOLUCIÓN CLÍNICA DE LOS PACIENTES A LAS 24H

Se analizó la respuesta clínica de los pacientes entre T0 y T2 mediante la escala SOFA (desglosados todos los ítems que la componen), así como pH arterial, urea y creatinina plasmática y lactato arterial. En las primeras 24h de TCRR los pacientes presentaron un descenso significativo de SOFA, pasando de 13 ± 2 en T0 a 11 ± 4 en T2, con $p < 0,006$. El apoyo vasopresor con noradrenalina también disminuyó comparando ambos tiempos, de $0,39 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min} \pm 0,29$ en T0 a $0,25 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min} \pm 0,26$, también estadísticamente significativo, con $p < 0,002$. Las variaciones entre T0 y T2 de la relación PaO₂/FiO₂, concentración plasmática de bilirrubina y lactato arterial no tuvieron significación estadística; sin embargo, se observó una corrección del pH sanguíneo arterial, con significación estadística, pasando de $7,27 \pm 0,10$ en T0 a $7,37 \pm 0,12$ en T2, con $p < 0,0001$. La cifra de plaquetas en sangre presentó un descenso de $149.10^9 \pm 115.10^9$ en T0 a $119.10^9 \pm 103.10^9$ en T2, con significación estadística, $p < 0,001$ (Tabla 9).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Parámetros clínicos	T0	T2	p
SOFA^b	13 ± 2	11 ± 4	0,006
Noradrenalina (µg/kg/min)^b	0,39 ± 0,29	0,25 ± 0,26	0,002
PaO ₂ /FiO ₂ ^b	253 ± 123	270 ± 115	0,331
Plaquetas^b	149000 ± 115000	119000 ± 103000	0,001
Bilirrubina ^b (mg/dl)	3,1 ± 6	3 ± 5	0,656
Creatinina (mg/dl)	3,7 ± 1,7	2,1 ± 0,9	0,0001
Urea^b (mg/dl)	147 ± 70	85 ± 46	0,0001
Lactato ^b (mmol/l)	2,5 ± 2	2,3 ± 3	0,749
pH arterial^b	7,27 ± 0,10	7,37 ± 0,12	0,0001

Tabla 9. Comparación de parámetros clínicos y escala SOFA entre T0 y T2.

^b Media y DS; Los resultados estadísticamente significativos están resaltados en negrita. Se detallan las variables clínicas analizadas, escala SOFA con los ítems que la componen, además de urea y creatinina plasmática en mg/dl, concentración de lactato en mmol/l y pH arterial, tanto en el Tiempo T0 como en el Tiempo T2, así como el resultado de la significación del test estadístico aplicado (p).

5.5 BIOMARCADORES

En base al objetivo principal, se hizo un análisis exhaustivo de biomarcadores, para lo cual se analizaron las principales determinaciones utilizadas en el manejo clínico del paciente séptico (tales como PCT PCR e IL-6); además, se centró la atención en la posible utilidad de biomarcadores del tipo nucleosomas circulantes y HMGB1 de cara a conocer su influencia en la patogenia de la sepsis, así como su posible susceptibilidad a ser eliminados mediante las TCRR. Para ello, se compararon las concentraciones de los distintos biomarcadores entre T0 y T2 (Figura 13). Las concentraciones de PCT disminuyeron de manera significativa entre T0 y T2, pasando de valores medios de 26,6 ng/ml +- 34,1 en T0 a valores de 17,9ng/ml +-25,7 en T2, con p 0,012; de igual manera descendió la concentración de IL-6 de 9858 pg/ml +- 21486 en T0 a 1206 pg/ml +- 2760 en T2, con p < 0,039. Sin embargo, los valores de nucleosomas en sangre no sufrieron cambios estadísticamente significativos entre T0 y T2, con 3,62 +- 3,46 µg/ml en T0 y 3,54 +- 3,79 µg/ml en T2; tampoco los valores de HMGB1 pasando de 9,09 +-10,01ng/ml en T0 a 11,05 +- 18,11 ng/ml en T2, ni tampoco los valores de PCR variaron de manera significativa, 245 mg/ml +- 145 en T0 y 264 mg/ml +-127 en T2 (Figura 13B, Figura 13C).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

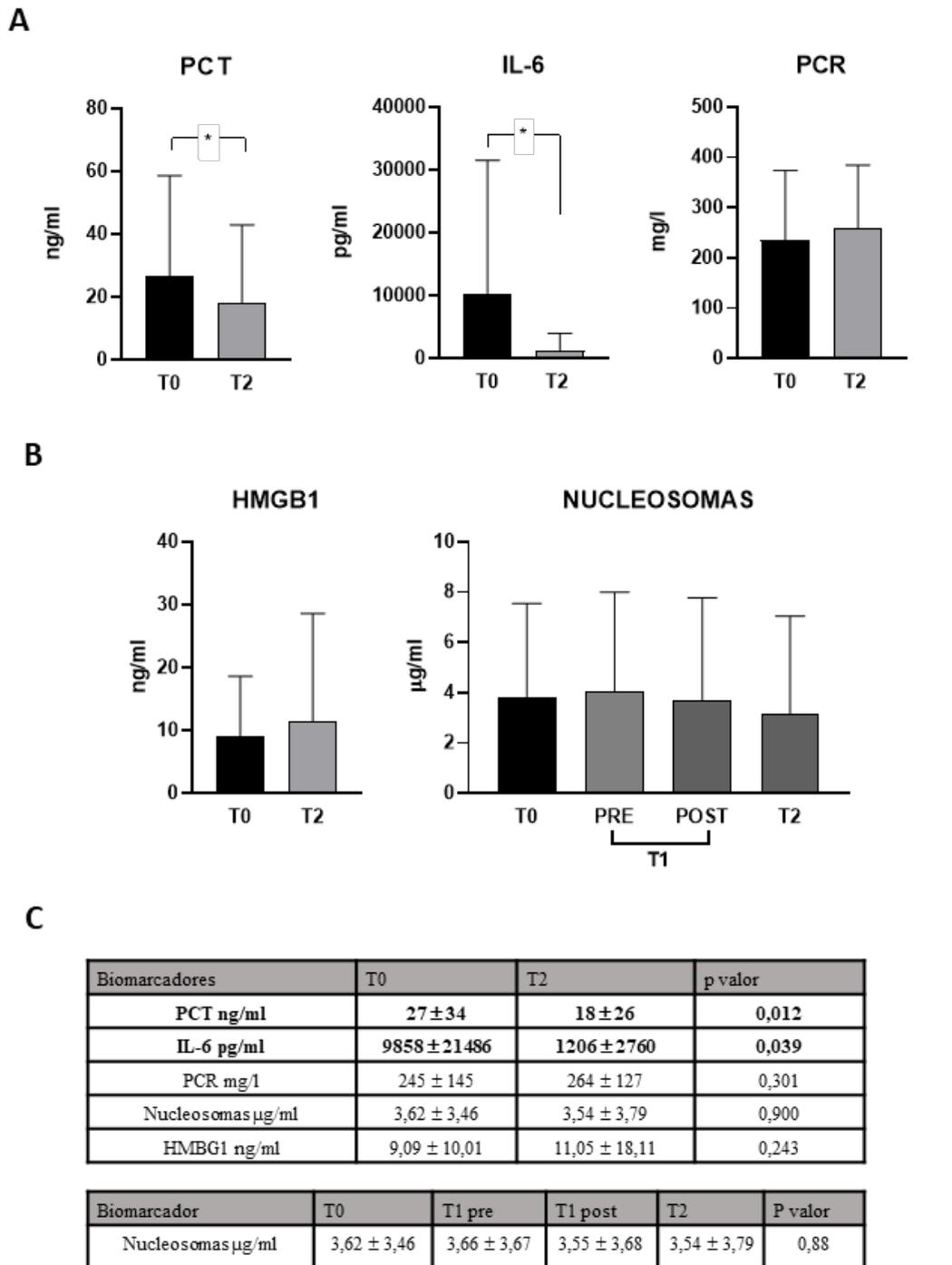


Figura 13. Evolución de biomarcadores.

(A) Medida de los niveles de procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6) y proteína C reactiva (PCR) en plasma de pacientes, mediante kit ELISA. (B) Medida de los niveles de nucleosomas y HMGB1 en plasma de pacientes, mediante kit ELISA (ver Material y Métodos para más detalles). Los gráficos muestran valores promedio y la desviación estándar (* $p < 0,05$). (C) Valores numéricos de los promedios representados en los gráficos, \pm desviación estándar. T1 pre: pre-filtro; T1 post: post-filtro.

5.5.1 EVOLUCIÓN DE BIOMARCADORES POR SUBGRUPOS

La falta de diferencias en las concentraciones de nucleosomas y HMGB1 en los diferentes tiempos analizados parecen indicar que las TCRR no afecta de forma específica a estas moléculas, y sí a otros biomarcadores tales como IL-6 y PCT. Dada la relación entre los biomarcadores analizados y la fisiopatología de la sepsis, teniendo en cuenta la correlación descrita entre ellos y la gravedad de los pacientes, se decidió dividir la muestra en subgrupos y analizar en ellos el comportamiento de los biomarcadores.

Teniendo en cuenta el diferente momento evolutivo de la sepsis de los pacientes en el momento de iniciarse la diálisis y las diferentes características de la misma, se realizaron varios subgrupos donde se comparó la evolución de los distintos biomarcadores de T0 a T2. Los subgrupos fueron:

1. Tiempo de evolución de la sepsis < 24h vs > 24h (definido por inicio de soporte con noradrenalina)
2. Control de foco séptico vs no control de foco séptico

Analizando los biomarcadores en el subgrupo de pacientes con tiempo de evolución de la sepsis menor de 24h (definido por tiempo desde el inicio de apoyo vasopresor), se observó que la IL-6 se redujo de manera estadísticamente significativa, pasando de 16252 ± 26324 pg/ml en T0 a 1691 ± 3484 pg/ml en T2, con $p 0,04$, y que la PCR aumentó de 204 ± 139 mg/l en T0 a 252 ± 132 mg/l en T2. Para el resto de biomarcadores los cambios detectados no tuvieron significación estadística (Figura 14).

En el subgrupo de pacientes con tiempo de evolución de sepsis mayor de 24h, que fueron 21 pacientes (72%), los nucleosomas descendieron de $2,94 \pm 2,35$ μ g/ml en T0 a $1,76 \pm 2,08$ μ g/ml en T2 ($p 0,03$) y la PCT descendió de 24 ± 34 ng/ml en T0 a 12 ± 17 ng/ml en T2 ($p 0,05$) (Figura 14).

PROTEÍNAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

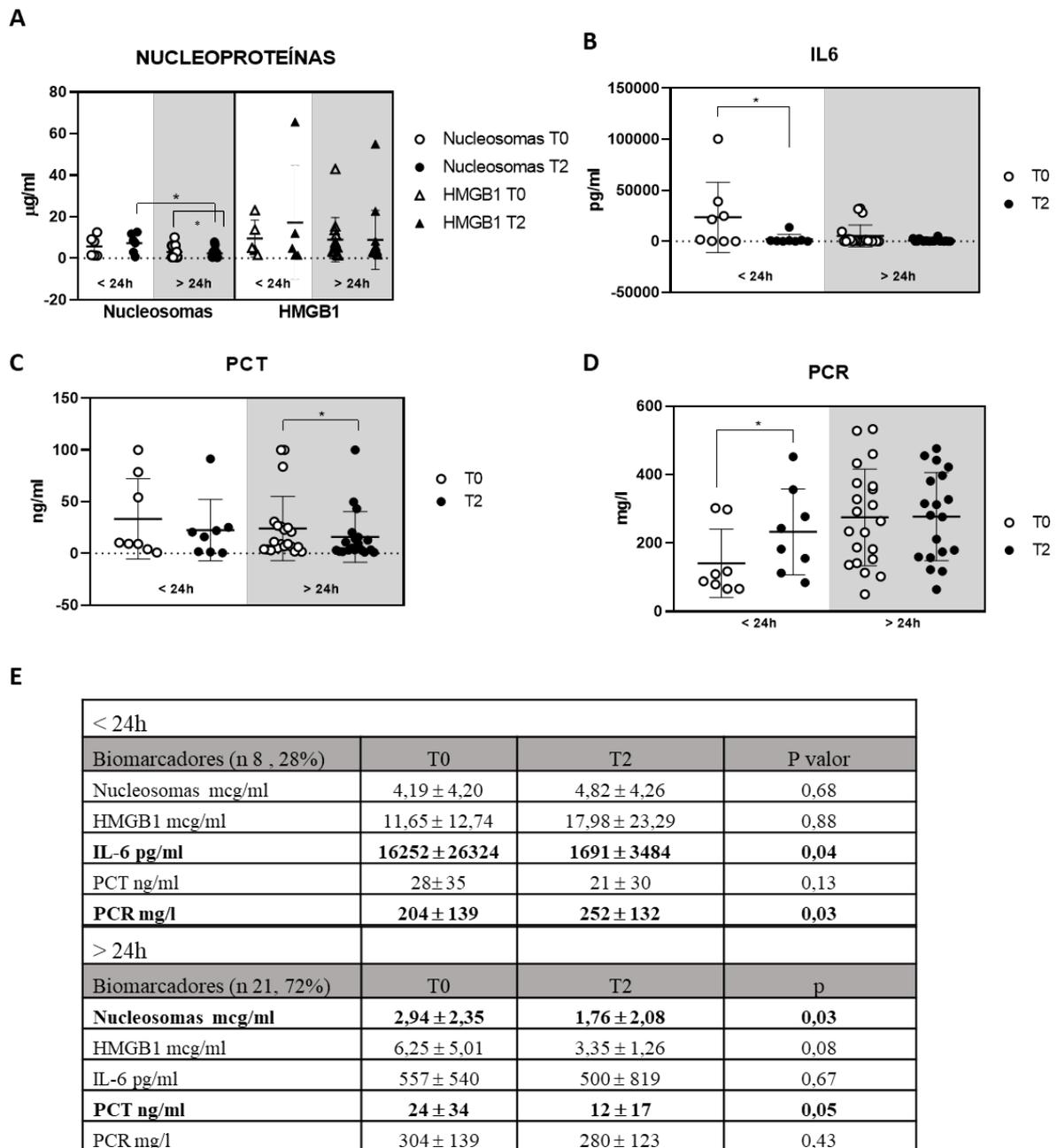


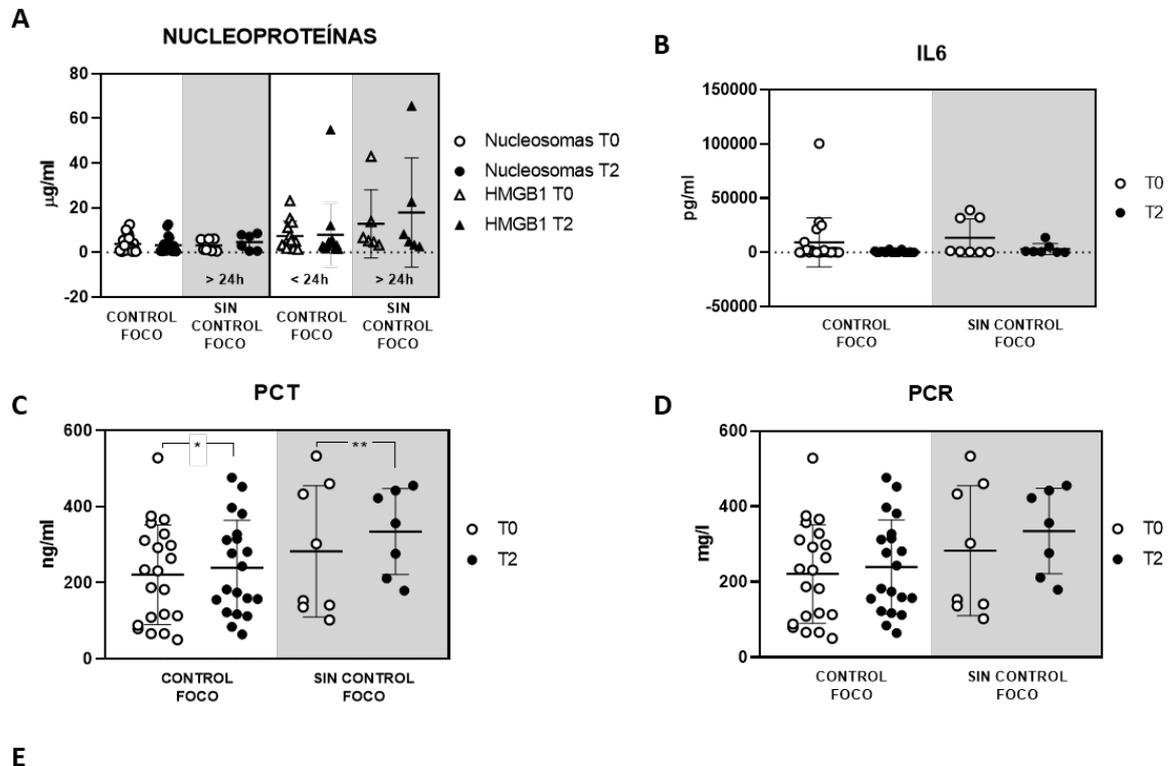
Figura 14. Evolución de biomarcadores en función del tiempo de evolución de sepsis.

Medidas de los niveles de (A) nucleosomas y HMGB1 (B) de interleukina-6 (IL-6) (C) de procalcitonina (PCT) y (D) de proteína C reactiva (PCR) en plasma de pacientes, tanto en pacientes con sepsis < 24h de evolución y > 24h de evolución, en ambos tiempos (T0 y T2). Los gráficos muestran las medidas obtenidas, valores promedio y la desviación estándar (* p < 0,05). (E) Valores numéricos de los promedios representados en los gráficos, ± desviación estándar.

En el subgrupo de pacientes en los que se controló el foco séptico previo a la conexión a las TCRR, que fueron 21 pacientes, 72% del total, la PCT descendió de T0 a T2 de 27 ± 35 ng/ml a 17 ± 24 ng/ml (p 0,03) (Figura 15). En el subgrupo de pacientes en los que no se logró el control

PROTEÍNAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

del foco séptico previo a la conexión del hemofiltro, que fueron 8 pacientes (28% del total), la PCT descendió entre T0 y T2, de 24 ± 34 ng/ml a 19 ± 32 ng/ml (p 0,01) (Figura 15C).



<i>Control de foco</i>			
Biomarcadores (n 21, 72%)	T0	T2	p
Nucleosomas mcg/ml	3,79 ± 3,76	3,17 ± 3,86	0,16
HMGB1 mcg/ml	7,40 ± 6,58	7,88 ± 14,40	0,19
IL-6 pg/ml	9555 ± 23200	545 ± 849	0,09
PCT ng/ml	27 ± 35	17 ± 24	0,03
PCR mg/l	222 ± 134	239 ± 124	0,47
<i>Sin control de foco</i>			
Biomarcadores (n 8, 28%)	T0	T2	p
Nucleosomas mcg/ml	3,14 ± 2,71	4,64 ± 3,66	0,46
HMGB1 mcg/ml	12,76 ± 15,25	17,90 ± 24,57	0,91
IL-6 pg/ml	10723 ± 17157	3096 ± 5011	0,16
PCT ng/ml	24 ± 34	19 ± 32	0,01
PCR mg/l	308 ± 168	334 ± 113	0,36

Figura 15. Evolución de biomarcadores en función del control de foco séptico.

Medidas de los niveles de (A) nucleosomas y HMGB1 (B) de interleukina-6 (IL-6) (C) de procalcitonina (PCT) y (D) de proteína C reactiva (PCR) en plasma de pacientes, mediante kit ELISA, en pacientes con control y sin control de foco, en ambos tiempos (T0 y T2). Los gráficos muestran las medidas obtenidas, valores promedio y la desviación estándar (* p < 0,05). (E) Valores numéricos de los promedios representados en los gráficos, ± desviación estándar.

5.5.2 COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES POR SUBGRUPOS

Al establecer esta nueva división de los pacientes, se realizaron también comparaciones de biomarcadores entre los diferentes subgrupos, para determinar la importancia del control o no del foco séptico y del tiempo de evolución de la sepsis en ellos. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con control de foco vs pacientes sin control de foco para ningún biomarcador (Tablas 10 y 11).

Biomarcadores	Control de foco (n 21)	No control de foco (n 8)	P
Nucleosomas T0 µg/ml	3,79 ± 3,76	3,14 ± 2,71	0,84
Nucleosomas T2 µg/ml	3,17 ± 3,86	4,64 ± 3,66	0,35
HMGB1 T0 µg/ml	7,40 ± 6,58	12,76 ± 15,25	0,38
HMGB1 T2 µg/ml	7,88 ± 14,40	17,90 ± 24,57	0,11
IL-6 T0 pg/ml	9555 ± 23200	10723 ± 17547	0,65
IL-6 T2 pg/ml	545 ± 849	3096 ± 5011	0,23
PCT T0 ng/ml	27 ± 34	24 ± 34	0,89
PCT T2 ng/ml	17 ± 24	19 ± 32	0,81
PCR T0 mg/l	222 ± 134	308 ± 168	0,31
PCR T2 mg/l	239 ± 124	334 ± 113	0,88

Tabla 10. Comparación de biomarcadores en función del control de foco.

Medidas de los niveles de nucleosomas, HMGB1, interleukina 6 (IL-6), procalcitonina (PCT) y proteína C reactiva (PCR) en plasma de pacientes, mediante kit ELISA, en pacientes con control de foco y sin control de foco.

Se detectaron niveles más altos de nucleosomas en los pacientes en los que el tiempo de evolución de la sepsis fue menor de 24h comparados con aquellos con tiempo de evolución superior a 24h: $4,82 \pm 4,26$ µg/ml vs $1,76 \pm 2,08$ µg/ml con p 0,03. (Tabla 11). Estos resultados evidencian una mayor concentración de nucleosomas en las fases más iniciales de los pacientes en shock séptico, en concreto en las primeras 24h de soporte vasopresor.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Biomarcadores	Sepsis < 24h (n 16)	Sepsis > 24h (n 13)	p
Nucleosomas T0 µg/ml	4,19 ± 4,20	2,94 ± 2,35	0,37
Nucleosomas T2 µg/ml	4,82 ± 4,26	1,76 ± 2,08	0,03
HMGB1 T0 µg/ml	11,65 ± 12,74	6,25 ± 5,01	0,25
HMGB1 T2 µg/ml	17,98 ± 23,29	3,35 ± 1,26	0,08
IL-6 T0 pg/ml	16252 ± 26324	3106 ± 8653	0,09
IL-6 T2 pg/ml	1691 ± 3484	500 ± 819	0,28
PCT T0 ng/ml	28 ± 35	25 ± 32	0,08
PCT T2 ng/ml	21 ± 30	13 ± 17	0,40
PCR T0 mg/l	204 ± 139	279 ± 141	0,16
PCR T2 mg/l	252 ± 132	280 ± 123	0,58

Tabla 11. Comparación entre biomarcadores con sepsis <24h vs >24h.

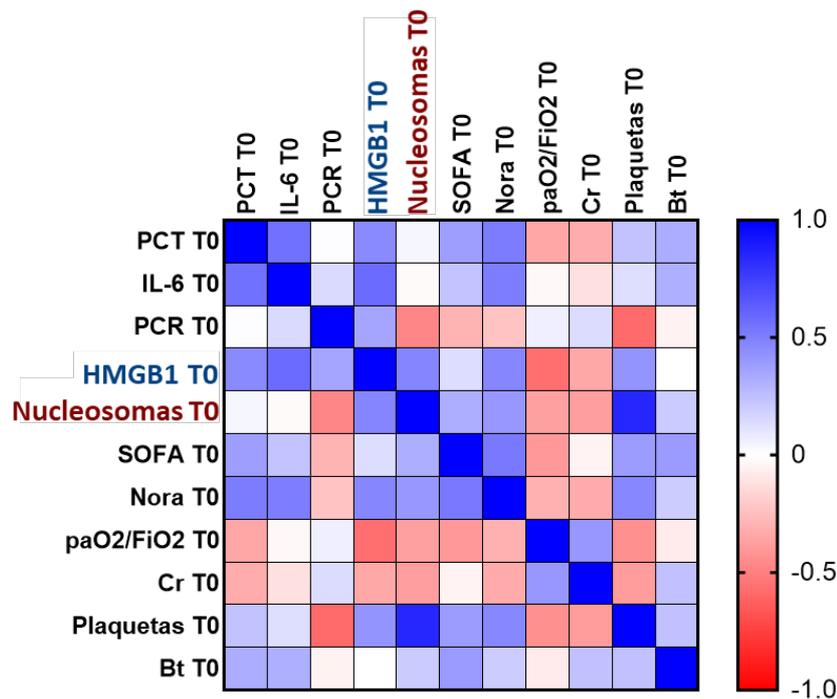
Medidas de los niveles de nucleosomas, HMGB1, interleukina 6 (IL-6), procalcitonina (PCT) y proteína C reactiva (PCR) en plasma de pacientes, mediante kit ELISA, en pacientes con sepsis < 24h evolución y > 24h evolución.

5.6 CORRELACIONES ENTRE BIOMARCADORES Y DISFUNCIONES ORGÁNICAS

Como objetivos secundarios del estudio, se exploró la posible relación entre los biomarcadores analizados y los parámetros clínicos, mediante el test de correlaciones Rho de Spearman. En la figura 16 se exponen los coeficientes de correlación entre las distintas variables mediante un código de colores en los tiempos T0 y T2 que se exponen con mayor detalle en los siguientes apartados.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

A



B

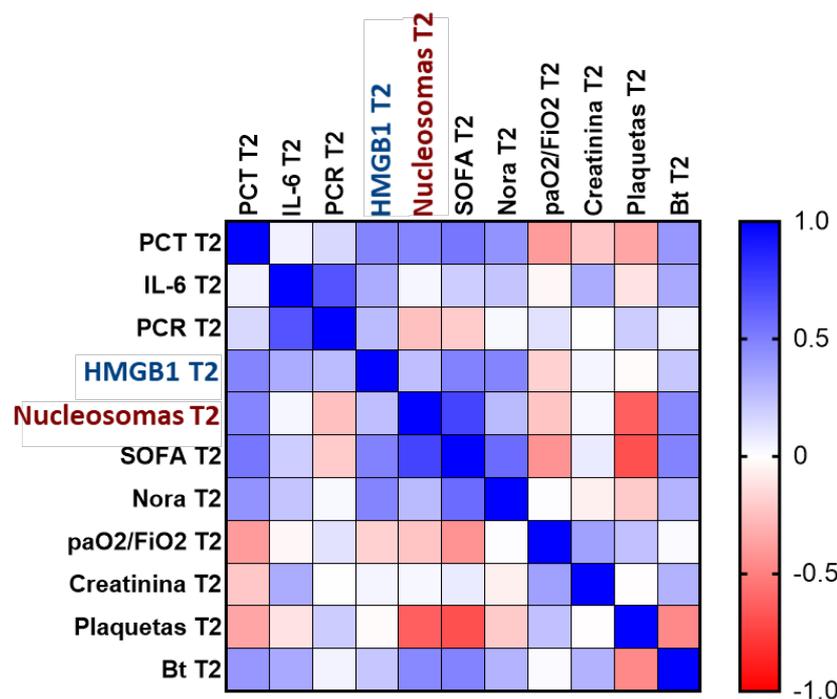


Figura 16. Resumen de correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman.

Resultados de las correlaciones obtenidas en (A) el tiempo T0 y (B) el tiempo T2 entre los biomarcadores procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), proteína C reactiva (PCR), HMGB1, nucleosomas, escala SOFA, y los ítems de fracasos orgánicos (cardiovascular mediante dosis de noradrenalina (Nora); respiratorio mediante relación PaO2/FiO2; renal mediante creatinina plasmática (Cr); coagulación mediante cifra de plaquetas; y hepático mediante bilirrubina total plasmática (Bt). Ver Tablas Suplementarias 1 y 2 para el detalle numérico de los coeficientes de correlación y su p valor correspondiente.

5.6.1 CORRELACIONES ENTRE BIOMARCADORES Y VARIABLES CLÍNICAS

La escala SOFA informa del fracaso orgánico global y está compuesta por variables clínicas referidas al sistema cardiovascular, hepático, renal, de coagulación y respiratorio. En el estudio se exploró la relación existente entre los biomarcadores con el SOFA así como con cada una de las variables que componen la escala (Figura 16-18; Tablas 12-13; Tablas suplementarias 1-4).

En T0 hubo correlación positiva entre SOFA y PCT (Tabla 12) además en T2 se observó una correlación positiva entre la escala SOFA y PCT (Tabla 13), SOFA y HMGB1 (Tabla 13, Figura 17C) y SOFA y nucleosomas (Tabla 13, Figura 17C).

Al analizar los fracasos orgánicos de forma detallada, en T0 hubo correlación positiva entre nucleosomas y el fracaso cardiovascular (dosis de noradrenalina) (Tabla 12), nucleosomas y fracaso respiratorio (relación PaO₂/FiO₂) (Ver Tabla suplementaria 3), nucleosomas y fracaso de coagulación (cifra de plaquetas) (Tabla 12, Figura 17A). Y se observó una correlación negativa entre nucleosomas y fracaso renal (creatinina plasmática, Cr) (Tabla suplementaria 3). En T2 hallamos correlación negativa entre los nucleosomas y el fracaso de coagulación (Tabla 13, Figura 17B) y correlación positiva entre nucleosomas y fracaso hepático (Tabla 13, Figura 17B). En T0 también hallamos correlaciones negativas entre HMGB1 y fracaso respiratorio (Tabla 12, Figura 17A), y correlación positiva entre HMGB1 y fracaso cardiovascular (Tabla 12, Figura 17A). En T2 hubo correlación positiva entre HMGB1 y fracaso cardiovascular (Tabla 13, Figura 17B). En T0 hallamos correlación positiva entre la PCT con el fracaso cardiovascular (Tabla 12), en T2 hubo correlación negativa entre PCT y fracaso respiratorio (Tabla 13) y correlación positiva entre PCT y fracaso hepático (Tabla 13). En T0 la IL-6 tuvo correlación positiva con el fracaso cardiovascular (Tabla 12), en T2 no hubo correlaciones significativas entre la IL-6 y ningún fracaso orgánico. La PCR no tuvo correlaciones significativas con fracasos orgánicos, ni en T0 ni en T2, ni con la escala SOFA.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

	SOFA T0	PaO2/ FiO2 T0	Nora T0	Plaquetas T0
PCT T0	0,0379* (0,043)		0,512** (0,005)	
IL-6 T0			0,507** (0,005)	
HMGB1 T0		-0,565* (0,012)	0,474* (0,040)	
Nucleosomas T0			0,406* (0,039)	0,849*** (0,0001)

Tabla 12. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación con significación bilateral de biomarcadores y parámetros de disfunciones orgánicas en T0.

Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T0 entre la escala SOFA y los ítems de fracasos orgánicos (respiratorio mediante relación PaO2/FiO2; cardiovascular mediante dosis de noradrenalina (Nora T0)) con procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), HMGB1 y nucleosomas. Nora: noradrenalina. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística *** correlación significativa en el nivel 0,001 (bilateral) ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

	SOFA T2	PaO2/FiO2 T2	Plaquetas T2	BT T2	Nora T2
PCT T2	0,534** (0,004)	-0,395* (0,042)		0,404* (0,037)	0,423* (0,028)
HMGB1 T2	0,488* (0,034)				0,479* (0,038)
Nucleosomas T2	0,733*** (0,0001)		-0,631** (0,001)	0,463* (0,023)	

Tabla 13. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores y parámetros de disfunciones orgánicas en T2.

Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T2 entre la escala SOFA y los ítems de fracasos orgánicos (respiratorio mediante relación PaO2/FiO2; coagulación mediante cifra de plaquetas, hepático mediante bilirrubina total plasmática (BT), cardiovascular mediante dosis de noradrenalina (Nora T0) y renal mediante creatinina plasmática (Cr) , con procalcitonina (PCT), HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

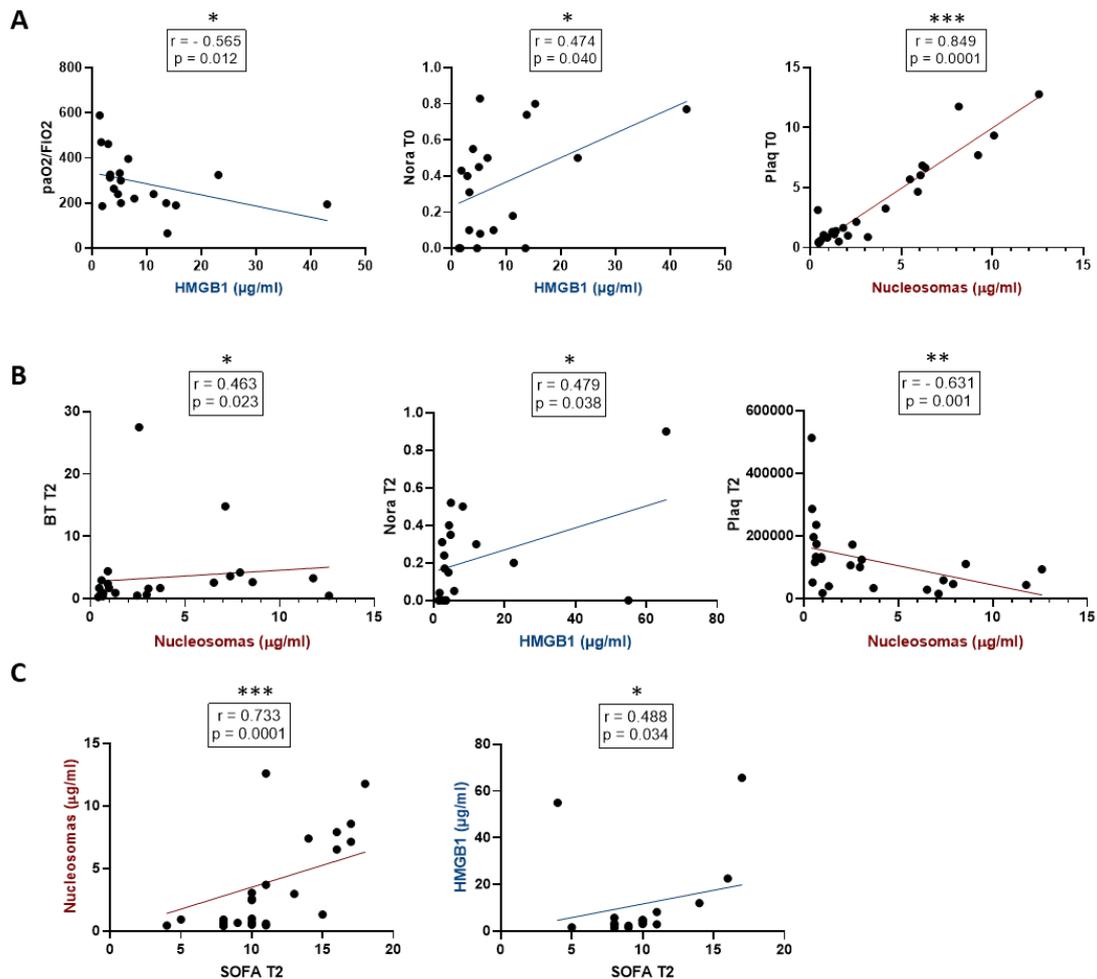


Figura 17. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral entre nucleoproteínas e indicadores de daño orgánico.

Resultados de las correlaciones obtenidas en (A) el tiempo T0 y (B) y (C) el tiempo T2 entre los ítems de fracasos orgánicos (respiratorio mediante relación PaO₂/FiO₂; coagulación mediante cifra de plaquetas, hepático mediante bilirrubina total plasmática (BT), cardiovascular mediante dosis de noradrenalina (Nora T0) y renal mediante creatinina plasmática (Cr)), con procalcitonina (PCT), la escala SOFA, y las nucleosomas HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística *** correlación significativa en el nivel 0,001 (bilateral); ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral); * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

5.6.2 CORRELACIONES ENTRE BIOMARCADORES

A partir de la matriz de correlaciones obtenida al analizar conjuntamente todos los biomarcadores (Figura 16), se analizaron de manera pormenorizada aquellas relaciones estadísticamente significativas en las que el coeficiente de correlación fuese superior a 0,5 / - 0,5 en T0 y en T2.

En T0 los nucleosomas se correlacionaron de forma negativa con la PCR (Tabla 14, Figura 18A).

En T2 los nucleosomas se correlacionaron de forma positiva con la PCT (Tabla 15, Figura 18B).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

En T0 la HMGB1 se correlacionó de forma positiva con la IL-6 (Tabla 14, Figura 18A), y en T2 la HMGB1 se correlacionó de forma positiva con la PCT (Tabla 15, Figura 18B). En T0 la PCT se correlacionó de forma positiva con la IL-6 (Tabla 14; Figura 18A). En T2 la IL-6 se correlacionó de forma positiva con la PCR (Tabla 15; Figura 18B).

	IL-6 T0	HMGB1 T0	Nucleosomas T0
PCT T0 ng/ml	0,554* (0,002)		
IL-6 T0 pg/ml		0,579** (0,0094)	
PCR T0 mg/l			-0,475* (0,014)

Tabla 14. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores en T0.

Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T0 entre procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), proteína C reactiva (PCR), HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística, ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

	PCR T2	HMGB1 T2	Nucleosomas T2
PCT T2 ng/ml		0,479* (0,038)	0,475* (0,019)
IL-6 T2 pg/ml	0,671*** (0,0001)		

Tabla 15. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores en T2.

Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T2 entre la procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), proteína C reactiva (PCR), HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística *** correlación significativa en el nivel 0,001 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

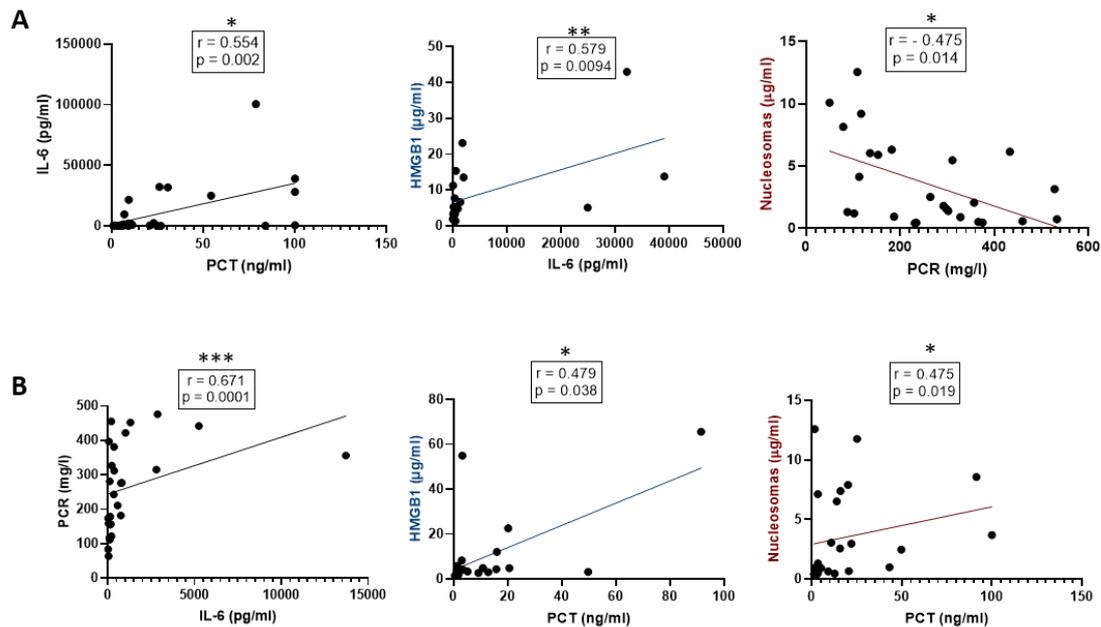


Figura 18. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores.

Resultados de las correlaciones obtenidas en (A) el tiempo T0 y (B) el tiempo T2 entre procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), proteína C reactiva (PCR), HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística, *** correlación significativa en el nivel 0,001 (bilateral); ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral); * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

5.7 MORTALIDAD Y ESTANCIA EN UCI

Se analizaron los distintos biomarcadores en función de la mortalidad de los pacientes, para detectar si existían diferencias entre los pacientes fallecidos y los supervivientes, tanto en la UCI como en el hospital y a los 28 días. La estancia media en UCI de los pacientes fue de 11 días (± 2), 14 pacientes (48,3 %) fallecieron en UCI, la mortalidad hospitalaria fue del 51,7% (15 pacientes), y la mortalidad a los 28 días no varió, permaneciendo en un 51,7% (15 pacientes). Los pacientes fallecidos en UCI tuvieron niveles más altos de HMGB1 en T2 con respecto a los no fallecidos, 14,81 $\mu\text{g/ml}$ ($\pm 7,59$) vs 10,60 ($\pm 6,43$), con $p < 0,05$. Para el resto de biomarcadores los cambios detectados no tuvieron significación estadística (Tabla 28).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Biomarcador	Supervivientes (n 15)	Muertos en UCI (n 14)	p
HMGB1 T0 µg/ml	9,55 (± 2,68)	10,94 (± 4,37)	0,74
HMGB1 T2 µg/ml	10,60 (± 6,43)	14,81 (± 7,59)	0,05
Nucleosomas T0 µg/ml	2,67 (± 1,12)	2,79 (± 0,81)	0,37
Nucleosomas T2 µg/ml	1,71 (± 0,84)	3,05 (± 1,18)	0,50
IL-6 T0 pg/ml	10457 ± 26325	10254 ± 14753	0,98
IL-6 T2 pg/ml	442 ± 713	2162 ± 3945	0,11
PCT T0 ng/ml	32 ± 38	21 ± 27	0,38
PCT T2 ng/ml	20 ± 27	15 ± 25	0,56
PCR T0 mg/l	230 ± 161	246 ± 127	0,77
PCR T2 mg/l	252 ± 130	280 ± 127	0,58

Tabla 16. Comparación de biomarcadores en T0 y T2 en función de mortalidad en UCI.

Medidas de los niveles de HMGB1, nucleosomas, interleukina 6 (IL-6), procalcitonina (PCT) y proteína C reactiva (PCR) en plasma de pacientes, mediante kit ELISA, en pacientes supervivientes y fallecidos en UCI.

La mortalidad hospitalaria y la mortalidad a los 28 días no varió. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los biomarcadores analizados en función de la mortalidad hospitalaria y a los 28 días (Tabla 17).

Biomarcador	Supervivientes (n 14)	Muertos en hospital y 28 días (n 15)	p
HMGB1 T0 µg/ml	10,24 ± 2,99	10,25 ± 4,23	0,87
HMGB1 T2 µg/ml	11,74 ± 7,31	13,46 ± 6,83	0,12
Nucleosomas T0 µg/ml	2,94 ± 1,25	2,56 ± 0,75	0,61
Nucleosomas T2 µg/ml	1,87 ± 0,96	2,78 ± 1,07	0,77
IL-6 T0 pg/ml	11137 ± 27182	9633 ± 14419	0,86
IL-6 T2 pg/ml	459 ± 736	2011 ± 3816	0,15
PCT T0 ng/ml	33 ± 39	20 ± 26	0,29
PCT T2 ng/ml	21 ± 27	14 ± 27	0,48
PCR T0 mg/l	209 ± 143	265 ± 143	0,29
PCR T2 mg/l	237 ± 122	293 ± 130	0,26

Tabla 17. Comparación de biomarcadores en T0 y T2 en función de mortalidad hospitalaria y a los 28 días.

Medidas de los niveles de HMGB1, nucleosomas, interleukina 6 (IL-6), procalcitonina (PCT) y proteína C reactiva (PCR) en plasma de pacientes, mediante kit ELISA, en pacientes supervivientes y fallecidos en hospital y a los 28 días.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

Analizados en conjunto, estos resultados corroboran la relevancia del análisis pormenorizado de paneles de biomarcadores complejos, así como de interrelacionarlos con las variables clínicas de los pacientes, para llegar a definir perfiles de gravedad, con mayor probabilidad de sufrir fracasos orgánicos y de exitus. Una vez identificados estos perfiles, se podría realizar un abordaje precoz de la sepsis, mediante monitorización exhaustiva, aplicación de tratamiento precoz, donde habría que analizar también el potencial terapéutico de las TCRR. Los resultados obtenidos en cuanto a las concentraciones de nucleosomas y HMGB1 indican que estas moléculas no parecen verse afectadas por esta técnica de TCRR, aunque en pacientes cuya sepsis tenía más de 24h de evolución de soporte vasopresor sí que se evidencia una reducción de nucleosomas en T2 vs T0 (marcando la importancia del momento evolutivo de la sepsis para el estudio de los biomarcadores), y de igual manera se objetiva que en los pacientes con menos tiempo de evolución de la sepsis las histonas y nucleosomas son más elevadas en T2 vs T0, poniendo en evidencia una marcada importancia de los nucleosomas en las fases más iniciales del shock séptico, con una elevación en las primeras 48h y un posterior descenso. No obstante, sí que hemos obtenido correlaciones entre la escala SOFA y HMGB1, igual que entre SOFA y nucleosomas; también se ha evidenciado correlación entre nucleosomas y fracaso cardiovascular, respiratorio, renal, coagulación y hepático. Así mismo, HMGB1 se correlaciona con el fracaso respiratorio y hemodinámico. Además, se han encontrado correlaciones significativas entre nucleosomas y HMGB1, y entre ellas y el resto de biomarcadores estudiados (PCT, PCR e IL-6). Destaca también que los pacientes críticos fallecidos en UCI tienen unas concentraciones más altas de HMGB1 en T2 comparados con los que sobreviven, hecho que confirma el valor pronóstico de los nucleosomas en los pacientes sépticos.

Por último, el análisis conjunto de nucleosomas y HMGB1 junto a biomarcadores clásicos como PCT, IL-6 y PCR podría ayudar a definir el pronóstico de subgrupos específicos de pacientes críticos.

6 DISCUSIÓN

La sepsis es uno de los mayores retos de la medicina en la actualidad. Su incidencia mundial a lo largo de las últimas décadas va en aumento, tanto que se ha convertido en una de las causas de ingreso en unidades de cuidados intensivos más frecuentes, con una mortalidad que ha ido disminuyendo de forma paralela, a pesar de lo cual aquella asociada al shock séptico llega a cifrarse en torno al 40% en Europa (Ver apartado 1.1.2.4). No solo supone un problema de salud por la mortalidad que conlleva, sino también por las secuelas debidas a alteraciones funcionales, cognitivas y de inmunodepresión de los enfermos, con los consiguientes costes económicos y sociales. En su variante más grave, el shock séptico, la sepsis asocia con frecuencia fracaso renal, entre otros fracasos orgánicos, y la necesidad de TCRR en este grupo de pacientes ha aumentado a lo largo de los últimos años. El papel de las TCRR en el paciente séptico ha sido objeto de estudio en la literatura, no solo por servir de soporte renal en cuanto a eliminación de agua y solutos, sino también por su posible función de inmunomodulación mediante la eliminación de mediadores inflamatorios, que limitaría el daño que estos producen en diferentes órganos. Han sido y son objeto de estudio en las TCRR el momento de inicio, la dosis y la modalidad (diálisis, convección, hemoperfusión), y para ello se han estudiado mediadores inflamatorios en los pacientes, sobre todo citoquinas inflamatorias, hallando altos niveles de ellas entre los fallecidos (Ver apartado 1.2.4.). En la sepsis, los biomarcadores tienen un papel fundamental en varias etapas del proceso: en el momento del diagnóstico, como predictores de mortalidad, como guía del tratamiento antibiótico y para identificar perfiles de riesgo y estratificar. Dados los fallos de los biomarcadores, la combinación de estos en paneles puede ser superior a cada uno por separado. Las nucleoproteínas están presentes en los momentos iniciales de la sepsis, activando la respuesta inflamatoria, y su estudio ha abierto un nuevo camino en el diagnóstico y también en el pronóstico de los pacientes con sepsis. En este contexto, nuestro interés se ha centrado en estudiar si los nucleosomas y la HMGB1 podían constituir biomarcadores adecuados en los pacientes en shock séptico con fracaso renal asociado, si las TCRR podían eliminar estas moléculas y mediante qué mecanismos, y si sus niveles se relacionaban con la gravedad de los pacientes, los fracasos orgánicos y la mortalidad. Para resolver esta incógnita realizamos un estudio observacional prospectivo longitudinal de 30 pacientes ingresados en el servicio de Medicina Intensiva del Hospital Dr. Peset, con diagnóstico de shock séptico y FRA sometidos a TCRR con HDVVC con anticoagulación regional con citrato, donde se analizaron PCT, PCR, IL-6, nucleosomas y HMGB1 previo a la conexión del hemofiltro y a las 24h de terapia. Además, para nucleosomas se analizaron concentraciones a la hora del inicio en el pre-filtro, post-filtro y en efluente. Se recogieron en los distintos tiempos variables clínicas para determinar la evolución de los fracasos orgánicos y su relación con los biomarcadores.

6.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES Y DE LAS TCRR

En cuanto a las características de los sujetos del estudio, la edad media fue de 67 años, hubo predominancia del sexo masculino, las escalas APACHE II y SOFA al ingreso fueron elevadas: 28 ± 10 y 11 ± 3 respectivamente. Los focos más frecuentes fueron el abdominal seguido del respiratorio y los microorganismos responsables fueron en su mayoría gram-negativos (52%) siendo *Escherichia coli* el más frecuente, seguido de gram-positivos (34%) siendo *Staphylococcus aureus* el más frecuente. Las patologías crónicas más frecuentes de nuestros pacientes fueron hipertensión arterial, Diabetes Mellitus y dislipemia. Los factores de riesgo para la sepsis descritos en los estudios de Derek et al y Mayr et al (17,18) son el síndrome de inmunodeficiencia adquirido, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y la presencia de neoplasias; en nuestro estudio, solo el 17% de los pacientes tuvo enfermedad pulmonar obstructiva crónica, y ninguno de ellos presentó neoplasias asociadas ni síndrome de inmunodeficiencia. En cuanto a la edad media, en nuestra muestra los pacientes tienen una edad media 5 años más joven que en el estudio de Darbà et al (12), con una predominancia del sexo masculino ligeramente superior. El foco de infección más frecuente descrito en los estudios multicéntricos internacionales epidemiológicos de sepsis es el respiratorio, y en segundo lugar el abdominal, como en el estudio de Vincent et al (13), con una predominancia de los microorganismos gram-negativos sobre los gram-positivos similar a nuestras cifras, con los mismos microorganismos gram-positivos y gram-negativos implicados.

Por lo tanto, nuestra muestra de pacientes se puede considerar representativa de la enfermedad estudiada, con unas características demográficas y etiológicas similares a las revisadas en las distintas publicaciones. La escala APACHE II al ingreso indica una mortalidad media estimada del 55%, siendo la tasa de letalidad descrita para el shock séptico del 42,9%, nuestros pacientes tienen una gravedad inicial alta, comparable a la observada para tal entidad (12).

En cuanto a las características de la sepsis y a su manejo, hubo control del foco séptico en el 72% de los pacientes y la sepsis cursó con bacteriemias secundarias en el 28% de los casos. Las recomendaciones de la *Surviving Sepsis Campaign* (23) en cuanto a control de foco, son que debe realizarse en las siguientes 6-12h del diagnóstico, e implica una identificación/exclusión y abordaje emergente del foco séptico, como drenaje de abscesos y desbridamiento de tejidos infectados, lo que muchas veces implica cirugías urgentes. En nuestro caso, los pacientes en los que no se pudo realizar control de foco (previo a la conexión del hemofiltro ni durante las 1as 24h) fueron casos que por su gravedad clínica no permitían intervenciones quirúrgicas iniciales o pacientes en los que se completó el diagnóstico clínico de forma paralela al inicio de las TCRR, tales como endocarditis sobre cable de marcapasos por *Staphylococcus aureus*, colecistitis gangrenosa, y pancreatitis enfisematosa. Las recomendaciones de la *Surgical Society* y de la

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) en cuanto a control del foco séptico en patología abdominal para pacientes críticos son laparotomía urgente en primera elección, aunque en algunos casos las técnicas percutáneas pueden indicarse para drenar abscesos en situaciones de gran inestabilidad clínica (266). En cualquier caso, teniendo en cuenta la gravedad clínica de nuestros pacientes y la inestabilidad hemodinámica que presentaban previa a la conexión con el hemofiltro, está justificado un abordaje no urgente de la mayoría de los pacientes, para permitir cierta estabilización, o bien no realizar intervenciones fútiles en casos de situaciones pre-mortem.

Las TCRR, estas se iniciaron de media a las 24h del inicio del soporte vasopresor y la mayoría de los enfermos presentaba fracaso renal agudo estadio 3 de KDIGO (79%). La dosis de diálisis usada fue de 24 ± 3 ml/kg/h, sin extracción inicial, con flujos de sangre de 100 ml/h (100-120). El inicio del soporte renal mediante TCRR en los enfermos críticos es siempre un punto de controversia que las guías del consenso KDIGO de 2012 tampoco aclaran, puesto que determinan que las TRR se inicien de manera urgente ante complicaciones que ponen en riesgo la vida del paciente (190). Los estudios que evalúan el momento adecuado de inicio de las TCRR en la sepsis (ver apartado 1.2.4) definen las terapias precoces de manera arbitraria: menos de 24h de la aleatorización, en el estudio de Payen *et al* (249), o inmediatamente tras la randomización en estadio 3 KDIGO en el estudio de Gaudry *et al* (250). Sin embargo otros más recientes tienen en cuenta el momento evolutivo del FRA, definiendo precoz el que se realiza a las 8h del diagnóstico de FRA estadio 2 KDIGO) como el estudio de Zarbock *et al* (251) o el estudio de Barbar *et al* que determina precoz a la estrategia que se inicia a las 12h del diagnóstico de FRA estadio “failure” de la clasificación RIFLE (253), estando este último centrado en pacientes sépticos. Teniendo en cuenta la variabilidad de las definiciones de la precocidad, pensamos que lo idóneo era centrar el momento evolutivo de las TCRR en función de la sepsis, y por lo tanto definir el tiempo de inicio de las TCRR en función del inicio de los fármacos vasopresores a semejanza del estudio de Barbar *et al* en el que se define la etapa precoz de la sepsis como las primeras 48h del inicio de los fármacos vasopresores (253). La mayoría de nuestros pacientes estaban en esa fase precoz de la sepsis, las TCRR se iniciaron de media a las 24h del soporte vasopresor, pero en cuanto al fracaso renal la mayoría se encontraban en estadio 3 de KDIGO, lo que en muchos estudios estaría considerado como estrategia estándar o tardía. En cualquier caso, no era objetivo del estudio determinar diferencias entre los pacientes en función del inicio de las TCRR, pero sí que consideramos el momento evolutivo de la sepsis importante a la hora de determinar biomarcadores y establecer comparaciones entre pacientes. La dosis de diálisis media utilizada se determinó conforme a las últimas recomendaciones de la conferencia KDIGO 2019 (261), que indican 20-25ml/kg/h como la dosis óptima, que además no varió a lo largo de las primeras 24h de soporte renal. Sí que se varió posteriormente para adecuarse a las necesidades dialíticas dinámicas de los pacientes, y dada la inestabilidad hemodinámica que presentaban al inicio de la terapia, la mayoría de pacientes no tuvieron extracción de líquido al inicio.

6.2 RESPUESTA CLÍNICA DE LOS PACIENTES Y EVOLUCIÓN DE BIOMARCADORES

La respuesta clínica de los pacientes se evaluó mediante la escala SOFA, que pasó de 13 ± 2 en T0 a 11 ± 4 en T2 con $p 0,006$. Analizado por separado se evidencia unos requerimientos menores de noradrenalina en T2 comparado con T0, una estabilización del pH sanguíneo en T2 corrigiendo una acidosis metabólica inicial y una mejoría de las cifras de creatinina plasmática y urea. También se observó una reducción significativa de la cifra de plaquetas en sangre. El resto de ítems como relación paO_2/FiO_2 , las cifras de bilirrubina total o las concentraciones de lactato arterial no presentaron cambios significativos.

Aunque la gravedad de los pacientes al ingreso fuese alta, determinada mediante las escalas APACHE II y SOFA, conseguimos cierta estabilización en las primeras 24h de TCRR, mejorando la escala SOFA a las 24h, lo que implica una bajada de la mortalidad potencial de los pacientes (7). Este hecho puede explicarse por la reducción también significativa de la necesidad de apoyo vasopresor y por la corrección del equilibrio ácido-base de los pacientes.

Estos resultados de mejoría hemodinámica han sido descritos con otras técnicas de TCRR, como la combinación de adsorción de endotoxinas eliminación de citoquinas y hemodiafiltración que permiten los filtros Oxiris® con membrana AN69, que funcionan mediante anticoagulación con heparina (267). También ha sido objetivada mejoría en la escala SOFA y en la disfunción hemodinámica en el estudio de Villa *et al* (268) realizado con filtros de alto punto de corte, después de 48h de tratamiento, junto con una reducción de mediadores inflamatorios como IL-6 y TNFa. Se ha establecido también que la mejoría hemodinámica pueda atribuirse al descenso de la uremia (269), y la estabilidad hemodinámica también puede estar en parte mediada por la corrección del pH sanguíneo que se consigue por todo el tratamiento inicial de la sepsis (fluidoterapia, antibióticos) y también por la acción del metabolismo del citrato que se descompone en bicarbonato, alcalinizando la sangre. Queda por explicar el papel que puede tener en el paciente crítico la corrección de la calcemia, que permite también esta técnica de anticoagulación regional con citrato-calcio. Sin olvidar que lo que realmente va a provocar una mejoría del paciente séptico es un correcto tratamiento antibiótico, una adecuada reanimación inicial y un correcto abordaje del foco séptico (23).

La concentración de PCT descendió de manera significativa en T2 vs T0, y en el análisis por subgrupos descendió en todos los casos: tanto en pacientes con sepsis de menos de 24h de evolución, como en pacientes de más de 24h de evolución. De igual manera descendió en el subgrupo de pacientes con control de foco séptico y en el de pacientes sin control de foco séptico, ambos resultados con significación estadística. Los cambios de PCT en función del control de foco séptico o del tiempo de evolución de la sepsis no resultaron significativos en ningún caso,

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

aunque los pacientes con sepsis de más de 24h de evolución presentaban en T2 menos concentración de PCT comparados con los pacientes con sepsis de menos de 24h de evolución.

En nuestro estudio, los valores de PCT descienden en pacientes con shock séptico más precoz, pero también en shock sépticos más tardíos; en pacientes con un adecuado control de foco, y en aquellos que no se puede lograr. Las limitaciones en cuanto al número de pacientes incluidos podrían haber sido determinantes a la hora de no encontrar diferencias entre los pacientes con control de foco vs no control, aunque el descenso de PCT a las 24h de TCRR puede también haber influido en ambos grupos, disminuyendo concentraciones.

La PCT se utiliza ampliamente como biomarcador diagnóstico de sepsis, junto con el contexto clínico y los datos microbiológicos (115), pero también se utiliza como guía para valorar la retirada del tratamiento antibiótico. Incluso ha sido considerada por *Schuetz et al* (133) como biomarcador sustituto de la respuesta del huésped para dirigir el tratamiento de pacientes con infecciones respiratorias. En este caso, si se trata de pacientes sometidos a TCRR la interpretación de los cambios de la PCT debería tomarse con cautela, puesto que sus resultados pueden verse influenciados por la diálisis, y un descenso en estos pacientes podría no estar relacionado con una mejoría clínica, sino con un efecto de las TCRR. Autores como Kade *et al* (270) han postulado que el descenso de citoquinas provocado por los filtros es lo que provoca el descenso de la PCT. Nuestro estudio no estaba diseñado para demostrar la eliminación de PCT mediante TCRR, para ello se debería haber analizado PCT pre-filtro post-filtro y en efluente en distintos tiempos. Otros han evidenciado eliminación de PCT mediante mecanismo convectivo (138), con membranas de polisulfona similar a la utilizada por nosotros (271) y con cambios significativos en las concentraciones de PCT de pacientes sépticos (136) (270). En pacientes con fracaso renal crónico, la PCT ha demostrado ser buen biomarcador diagnóstico de sepsis y con buena correlación con la gravedad de los pacientes, de manera que, aunque basalmente los enfermos con insuficiencia renal crónica puedan tener niveles más elevados, estos aumentarían más ante la infección (272). En pacientes con sepsis y TCRR varios autores han manifestado sus dudas acerca de la validez de la PCT y de la PCR (139) por lo que existe cierta controversia respecto a la validez de estos biomarcadores en pacientes sépticos con TCRR.

En nuestro estudio, la PCT se correlacionó de forma positiva con la escala SOFA, con el fracaso cardiovascular, respiratorio y con el fracaso hepático (Ver Tablas 12, 13 y 14). Algunos autores como Meisner *et al*, corroboran estos datos de asociación entre PCT y escala SOFA (114), otros también han asociado la gravedad de la infección con valores más altos de PCT (125), incluso con la carga bacteriana (119). *Schuetz et al* en su metanálisis de 2018 afirman que la PCT es un buen sustituto de la respuesta del huésped a las infecciones bacterianas, además de los parámetros clínicos y diagnósticos tradicionales (133).

Varios son los estudios que han demostrado buena capacidad pronóstica de la PCT en el paciente séptico (123)(124), incluso se le ha otorgado capacidad predictiva (132) (116) (117). En nuestro

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

caso, la PCT no mostró diferencias entre supervivientes y fallecidos en UCI, ni antes ni a las 24h de TCRR, pensamos que la eliminación de PCT mediante TCRR ha podido influir disminuyendo altas concentraciones incluso en pacientes con mala evolución y ausencia de control de foco séptico. Aunque la PCT pueda presentar falta de fiabilidad como biomarcador, la revisión sistemática Cochrane del 2019 considera que no hay biomarcador mejor en la sepsis, en cuanto a diagnóstico y pronóstico (134), y las guías de la *Surviving Sepsis Campaign* del 2017 (23) proponen seguir usando PCT para acortar tratamiento antibiótico. Otro aspecto interesante a estudiar sería el posible impacto que pueda tener en la respuesta clínica de los pacientes la eliminación de PCT mediante TCRR como mediador inflamatorio.

Por lo tanto, con estos resultados ponemos en evidencia el papel de la PCT como guía de la respuesta al tratamiento antibiótico en los pacientes con shock séptico sometidos a TCRR, por su eliminación descrita en estudios anteriores (136,138,270,271) y su descenso observado en nuestro estudio, y de igual manera dudamos de su eficacia como biomarcador pronóstico en pacientes sometidos a TCRR.

La concentración de IL-6 se redujo de manera significativa en nuestros pacientes tras 24h de tratamiento con TCRR, con niveles iniciales muy elevados cercanos a los 10.000 pg/ml, compatibles con una situación de shock séptico (156). En el análisis por subgrupos descendió de manera significativa en los pacientes con sepsis más precoces (menos de 24h de soporte vasoactivo) y no en aquellas más tardías; en pacientes con control de foco se observó un descenso de IL-6 a las 24h de TCRR sin significación estadística, igual que en pacientes sin control de foco séptico, aunque en menor medida. Aunque algunos autores han descrito elevaciones de IL-6 en pacientes dializados, como respuesta inflamatoria al someter a la sangre al paso por un circuito extracorpóreo (238–240), el poder de eliminación de citoquinas con las TCRR ha sido referido previamente: Payen et al detectan en el ultrafiltrado IL-6 concentraciones que suponen el 35% de las plasmáticas (249), y con las mismas membranas que las usadas en nuestro estudio también ha sido evaluada la capacidad de las TCRR para eliminar IL-6 entre otras citoquinas (273).

En nuestro caso, el descenso de IL-6 lo observamos de manera global y al dividir a los pacientes en subgrupos lo observamos en shock sépticos más precoces, y no en aquellos más tardíos. Esto podría explicarse por la propia cinética de la IL-6, con pico precoz a las pocas horas y descenso posterior (156), además del propio efecto de las TCRR. Destaca que observamos un descenso de IL-6 tanto en sepsis con control de foco como en aquellas sin control de foco, aunque sin significación estadística, lo que corrobora la participación de las TCRR en su eliminación.

Esta eliminación de citoquinas mediante TCRR es una de las hipótesis del posible beneficio del inicio precoz de las TCRR (Ver apartado 1.2.4), dado su papel en la respuesta inflamatoria inicial, aunque los beneficios de la precocidad solo han podido ser demostrados en el caso de pacientes postquirúrgicos cardiacos que desarrollan fracaso renal agudo (251); en este estudio, las concentraciones de IL-6 e IL-8 tras 6h de TCRR descendieron también de manera significativa

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

en el grupo de inicio precoz, además de asociarse IL-6 con mortalidad en la regresión logística. En el caso de pacientes en shock séptico en fase precoz (48h tras el inicio de fármacos vasoactivos) que desarrollan fracaso renal agudo no se han encontrado diferencias en términos de mortalidad, días libres de ventilación mecánica, vasopresores, estancia en UCI o dependencia de TRR (253), aunque en este estudio no se analizaron citoquinas.

Aunque no haya evidencia para el inicio precoz de TCRR en pacientes sépticos, la definición de precoz ha sido muy variable a lo largo de los estudios (por estadio de FRA, por horas desde la admisión del paciente, tras randomización). Nosotros entendemos precocidad clínica por la fase inicial de tormenta inflamatoria y los niveles elevados de IL-6 se han relacionado con la evolución clínica de los pacientes sépticos. En efecto, niveles altos de IL-6 se han relacionado con mortalidad (249) y valores altos de IL-6 en pacientes críticos tienen valor pronóstico de mortalidad al tercer día (169). En nuestro caso objetivamos tendencia al descenso de IL-6 en pacientes con control del foco séptico, no hallamos relación entre IL-6 y la escala SOFA, presente en el metanálisis de Iwase *et al* de 2018 (170), pero sí que hallamos correlación entre IL-6 y el fracaso hemodinámico. Detectamos mayores valores de IL-6 a las 24h en fallecidos vs supervivientes, pero sin significación estadística, resultados en probable relación con el número de pacientes analizados, y también influenciados por la eliminación de IL-6 por las técnicas de TCRR.

De igual manera que para la PCT, no se midieron concentraciones de IL-6 pre-filtro post-filtro y efluente para determinar exactamente el mecanismo de depuración de la molécula. Consideramos importante el hecho de objetivar descenso de IL-6 de manera global en nuestros pacientes con TCRR, aceptando cierta participación de las TCRR en la respuesta inflamatoria inicial de la sepsis. Sin embargo, ponemos en duda también el valor de este biomarcador en pacientes sépticos sometidos a TCRR, de igual manera que con la PCT, puesto que, aunque se asocie con mortalidad y mala evolución clínica de los pacientes, su descenso puede estar mediado en parte por las TCRR. Las concentraciones medias de PCR detectadas, tanto al inicio como a las 24h de TCRR, se encuentran muy por encima de los umbrales propuestos como patológicos, con valores medios de 245 ± 145 mg/l y no presentaron cambios globales estadísticamente significativos. De igual manera que para los biomarcadores previos, no se midieron concentraciones de PCR pre-filtro post-filtro y efluente para determinar exactamente el mecanismo de depuración de la molécula. En los pacientes con sepsis de menos de 24h de evolución, la PCR aumentó en T2 vs T0, con significación estadística. Por su alto peso molecular en comparación con los biomarcadores previos (PCT e IL-6), se supone una menor eliminación de PCR con las TCRR. Este aumento de PCR detectado en los pacientes con sepsis de menos de 24h de evolución puede explicarse por la propia cinética del biomarcador, que tiene un pico máximo a las 36h del inicio de la sepsis, y por lo tanto más tardío que el resto de biomarcadores. En cualquier caso, nosotros podemos decir que, en nuestro estudio, con el tipo de membranas usadas y en nuestras condiciones específicas, las

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

concentraciones de PCR no se afectan por las TCRR. En pacientes en hemodiálisis convencional, tanto la PCT como la PCR han presentado un alto valor predictivo negativo y positivo, y son biomarcadores ampliamente utilizados en el diagnóstico de la sepsis (274). Sin embargo, se ha objetivado una eliminación de PCR mediante diálisis con membranas de alto punto de corte (45 KDa) (270) y a su vez, se ha descrito una forma monomérica presente en sangre susceptible de ser filtrada con más facilidad por su menor peso molecular (151).

En nuestro caso la PCR no se relacionó con la escala SOFA, ni con ninguno de los fracasos orgánicos que engloba, tampoco encontramos diferencias en las concentraciones de PCR entre los pacientes fallecidos vs supervivientes, resultados en probable relación con el tamaño muestral analizado. Las concentraciones altas de PCR (definidas como > 100 mg/l) se han asociado con fallo orgánico y muerte (149), y sus variaciones en las primeras 48h han sido relacionadas con la respuesta al tratamiento antibiótico (148). Autores como Kade *et al*, afirman que puede ser un biomarcador más fiable que la PCT para pacientes sépticos con TCRR (270), opinión controvertida, puesto que conocemos de sobra las limitaciones de la PCR en cuanto a especificidad para la sepsis (123). En resumen, la PCR no sufrió cambios destacables a nivel global con las TCRR, pero sí que experimentó un ascenso en el subgrupo de pacientes con sepsis tardías, lo cual aporta más fiabilidad a la PCR como biomarcador de respuesta clínica en pacientes sometidos a TCRR con respecto a otros como la PCT e IL-6.

Uno de los objetivos de nuestro estudio era analizar la evolución de nucleoproteínas liberadas al torrente sanguíneo durante el proceso de sepsis y en relación a las TCRR, en concreto nucleosomas y la proteína nuclear HMGB1. Los nucleosomas no presentaron cambios estadísticamente significativos de manera global en nuestros pacientes a lo largo de las primeras 24h de TCRR. Se detectaron concentraciones en T0 de $3,62 \pm 3,46$ μ g/ml, que no variaron de manera significativa a lo largo de todos los tiempos, sin detectar su presencia en ninguna de las muestras de efluente analizadas. Al contrario que para los biomarcadores previos, se determinaron nucleosomas pre-filtro post-filtro y en efluente. Las variaciones en las concentraciones pre y post-filtro no fueron significativas, y se detectó una tendencia al aumento de concentración de nucleosomas en el post-filtro. Este hecho, aun sin significación estadística, podría ser explicado por el efecto que tiene sobre la sangre el paso por un circuito extracorpóreo, donde se ha descrito activación del sistema del complemento con activación de leucocitos y liberación de especies reactivas de oxígeno, aunque este efecto se ha descrito como mínimo en las membranas de polisulfonas en comparación con las celulósicas tipo cuprofán (236,237).

Las nucleoproteínas están implicadas en el daño endotelial inicial de la sepsis (83), por lo que su presencia en las fases más iniciales es esperable; niveles más elevados de histonas y nucleosomas circulantes se correlacionan con mayor gravedad y mortalidad de los pacientes (50).

En nuestro estudio se analizaron las concentraciones de nucleosomas; otros autores han analizado histonas, mediante distintos métodos, encontrándose diferentes concentraciones: Alhamdi *et al*

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

evidenciaron niveles de histonas de 75 $\mu\text{g/ml}$ en pacientes sépticos con disfunción cardiaca asociada (50); Abrams *et al* detectaron histonas de 10 a 230 $\mu\text{g / ml}$ dentro de las 4 horas posteriores al traumatismo grave y las relacionaron con el desarrollo de lesión pulmonar aguda. (48); Ekaney *et al* detectaron niveles medios de H4 en pacientes sépticos de 0,37 ng/ml , con niveles más altos en pacientes que requirieron TRR (176); finalmente, García-Giménez *et al* detectaron, mediante un método de espectrometría de masas dirigido, concentraciones medias de H2B de 5,843 $\mu\text{g/ml}$ y H3 de 11,641 $\mu\text{g/ml}$ en pacientes con shock séptico bacteriémico en las primeras 24h de estancia en cuidados intensivos (49). Es importante tener en cuenta el método de análisis para establecer comparaciones con otros autores, de igual manera que lo que se analiza, nucleosomas o tipos concretos de histonas. En cualquier caso, las concentraciones halladas en nuestro estudio son superiores a los umbrales propuestos por la mayoría de los autores anteriormente citados para el diagnóstico de sepsis. Otro aspecto metodológico a tener en cuenta es la manipulación de las muestras, siendo necesaria una extracción de sangre seguida de una centrifugación inmediata, puesto que en 5 minutos las nucleoproteínas pueden degradarse a nivel plasmático, como describe Ekaney *et al* (176). En nuestro estudio todas las muestras se procesaron de inmediato tras la extracción. En cuanto al análisis de las muestras del efluente, cabe señalar la dificultad de su procesado: analizamos 17 ml de una bolsa de recogida de efluente que podía albergar hasta 3L, resultantes de los líquidos de cebado de la máquina y líquido de diálisis, con lo cual, en caso de existir, las moléculas a detectar se encontrarían muy diluidas.

En el análisis por subgrupos, sí que observamos diferencias en las concentraciones de nucleosomas en pacientes con sepsis de más de 24h de evolución, en los que los nucleosomas descendieron a las 24h de TCRR (ver Figura 14), y corroborando este resultado la comparación en T2 de nucleosomas entre pacientes con shock sépticos $>$ de 24h vs $<$ 24h resultó también significativa, siendo más altas las concentraciones en T2 de pacientes con sepsis $<$ 24h. En nuestro estudio, los nucleosomas tienen concentraciones más elevadas en etapas más iniciales y descienden a partir de las 48h de inicio del soporte vasoactivo, al contrario de lo observado en el grupo de Chen *et al*, donde los niveles de nucleoproteínas permanecen elevados en los primeros 7 días de evolución (177). Hubiese sido interesante analizar en nuestros pacientes los niveles de nucleosomas en días sucesivos, y no ceñirnos a una ventana temporal de 24h, pero por restricciones presupuestarias esto no fue posible. Detectamos también una tendencia hacia el descenso de nucleosomas en T2 en pacientes con control del foco séptico y una tendencia al aumento en T2 en pacientes sin control del foco séptico, sin significación estadística. En el estudio de Chen *et al*, los pacientes con una respuesta inflamatoria más grave tienen mayor concentración de nucleoproteínas (177); sin embargo, dada la ausencia de significación estadística y las escasas variaciones en las concentraciones no podemos extraer conclusiones de estos resultados dispares. En nuestro estudio encontramos correlación positiva entre la escala SOFA y la concentración de nucleosomas en T2 (Ver Figura 17C), además, encontramos correlación entre los nucleosomas y

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

el fracaso cardiovascular, respiratorio, renal, de coagulación y hepático. Asimismo, los nucleosomas se correlacionaron de forma positiva con la cifra de plaquetas antes del inicio de la diálisis, sin embargo, a las 24 horas del inicio de las TCRR, esta correlación fue negativa. En las etapas iniciales de la sepsis la respuesta inflamatoria inicial ocasiona un daño endotelial que conlleva un estado procoagulante y una activación plaquetar inicial.

La correlación positiva de nucleosomas en T0 que hallamos con la cifra de plaquetas podría responder a ese estado procoagulante inicial, donde se ha descrito activación plaquetar mediada por histonas extracelulares (86). Sin embargo, tras 24h de TCRR la correlación entre nucleosomas y plaquetas se torna negativa, asociación ya descrita por otros autores que han evidenciado correlación negativa entre histonas y plaquetas, en concreto H4 (176).

Observamos una tendencia al aumento de nucleosomas en T2 para los fallecidos en UCI, sin significación estadística. Las histonas circulantes se han relacionado con la disfunción cardiaca asociada a la sepsis (50), con la respuesta inflamatoria sistémica (83) y colaboran en la inmunodepresión asociada a la sepsis (71). Las nucleoproteínas circulantes también se han relacionado con la respuesta inflamatoria, la disfunción orgánica y la inmunoparálisis (177), con la gravedad de la sepsis, la mortalidad (178) y con la coagulopatía asociada a la sepsis (179). En nuestra limitada población de estudio encontramos correlación con la mayoría de las disfunciones orgánicas, y pensamos que el tamaño muestral ha podido ser determinante a la hora de no encontrar diferencias en términos de mortalidad.

El hecho de que algunos autores hayan relacionado ciertas histonas con el estado de inmunosupresión que puede asociar la sepsis (85) (71), y que objetivemos concentraciones altas de nucleosomas en pacientes críticos sépticos puede abrir la puerta a la determinación precoz de las mismas para identificar pacientes en riesgo de presentar el síndrome PICS (*persistent inflammation-immunosuppression and catabolism state*) (31), responsable de la morbimortalidad a largo plazo de los pacientes sépticos que cursan con largas estancias en las UCIs y que también son reconocidos como “pacientes críticos crónicos”.

Otro aspecto importante que otorga complejidad a estos biomarcadores es la dualidad de histonas y nucleosomas en la respuesta clínica, puesto que no solamente están implicadas en el daño endotelial inicial, sino que también están presentes en el proceso de netosis junto con péptidos antimicrobianos participando en la eliminación de microorganismos, aunque la netosis descontrolada también se asocia a mayor daño inflamatorio (57) (58).

Podemos afirmar que, en nuestro estudio, los pacientes en shock séptico con fracaso renal y sometidos a TCRR no presentan variaciones en las concentraciones de nucleosomas plasmáticos, que presentan correlación con las disfunciones orgánicas de los pacientes y que hay una tendencia hacia el aumento de nucleosomas entre los pacientes que fallecen en UCI. Por último, que las TCRR no produzcan variaciones en las concentraciones de nucleosomas puede darles fiabilidad

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

como biomarcadores, al contrario que otros como la IL-6 y la PCT que si presentan descenso con ellas.

En cuanto a la proteína nuclear HMGB1, su concentración en plasma fue de $9,09 \pm 10,01$ $\mu\text{g/ml}$ en T0, sin presentar cambios estadísticamente significativos a las 24h de TCRR, detectándose una tendencia al ascenso con valores de $11,05 \pm 18,11$ $\mu\text{g/ml}$ a las 24h. En el análisis por subgrupos se observó una tendencia al aumento a las 24h en pacientes sin control del foco séptico y en pacientes con sepsis más precoces ($< 24\text{h}$) con respecto a las más tardías ($>24\text{h}$) (Ver Tabla 10 y 11). En nuestro estudio objetivamos correlación positiva entre HMGB1 y escala SOFA (Ver Figura 17C) , correlación negativa significativa entre HMGB1 previa conexión a TCRR y deterioro respiratorio, y correlación positiva significativa entre HMGB1 y fracaso hemodinámico (Ver Figura 17A-17B) tanto antes como a las 24h de TCRR. A las 24h de TCRR, las concentraciones de HMGB1 si que fueron más elevadas en pacientes fallecidos en UCI vs supervivientes, $14,81 \pm 7,59$ $\mu\text{g/ml}$ vs $10,60 \pm 6,43$ $\mu\text{g/ml}$ con $p 0,05$.

En cuanto a las concentraciones medias detectadas de HMGB1, en nuestro estudio son mucho más elevadas que en otros: en el estudio de Gibot *et al* (187) los pacientes en situación de shock séptico (son valores de escala SOFA similares a los nuestros) presentan concentraciones medias de $0,0044$ $\mu\text{g/ml}$; en el estudio de Sundén-Cullberg *et al* (188) también realizado en pacientes en shock séptico detectan niveles medios de $0,034$ $\mu\text{g/ml}$. Con las limitaciones que presenta comparar valores absolutos de distintas poblaciones, la primera observación es de la metodología empleada para medir HMGB1: en ambos estudios emplean un ELISA con anticuerpos policlonales comerciales Shino-test, Kanagawa, Japón, mientras que en nuestro estudio utilizamos el kit ELISA de IBL.

Por otra parte sabemos que la gravedad del cuadro clínico influye en los valores de HMGB1, como detectaron Gibot *et al* (187) y aunque ambas poblaciones de los estudios presenten escalas SOFA similares, la diferencia es que todos nuestros pacientes requieren TCRR, que sabemos otorga mayor gravedad y peor pronóstico (194), mientras que en el estudio de Gibot *et al* (187) un 33% de los pacientes requiere TCRR y en el estudio de Sundén-Cullberg *et al* (188) solo un 8% de los pacientes presentan fracaso renal, sin especificar población sometida a TCRR.

Otro aspecto a destacar es la importancia de la evolución del cuadro clínico séptico, para determinar si las concentraciones de un biomarcador son útiles para la práctica clínica, en cuanto a diagnóstico, para guiar el tratamiento o pronóstico. Al ingreso, las concentraciones medias de HMGB1 en nuestro estudio son muy elevadas en comparación con el resto de estudios. No pudimos llegar a obtener resultados significativos, solo una tendencia al aumento de HMGB1 en sepsis sin control de foco, que hubiese sido interesante para otorgar relevancia al biomarcador para guiar el tratamiento, puesto que además es el único biomarcador que presenta una tendencia al aumento en nuestros pacientes. Se ha considerado la HMGB1 como mediador tardío de la

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

inflamación en la sepsis por detectarse valores elevados en sangre hasta una semana (188). Al contrario, nosotros detectamos más concentración de HMGB1 en sepsis más precoces con respecto a las tardías, aunque las poblaciones como hemos explicado anteriormente no son comparables.

Las correlaciones de HMGB1 con la gravedad clínica de los pacientes han sido objetivadas en el estudio de Gibot *et al* (187): escala SOFA, concentraciones de PCT y lactato se correlacionan de forma positiva con HMGB1. En el estudio de Sundén-Cullberg (188) no se objetivó correlación con la escala SOFA. En nuestro estudio, objetivamos correlación positiva entre la escala SOFA y HMGB1 a las 24h de TCRR y entre HMGB1 y disfunción hemodinámica. De manera similar, otros han evaluado la asociación de HMGB1 y daño miocárdico en síndrome de isquemia reperusión (275), incluso en LCR en supervivientes de parada cardiorrespiratoria para evaluar el pronóstico neurológico (276). A nivel respiratorio, en nuestro estudio hallamos correlación entre la disfunción respiratoria y HMGB1; otros autores han detectado la presencia de HMGB1 en el lavado broncoalveolar de pulmones dañados por la ventilación mecánica (277), y a nivel experimental su administración intra-traqueal en ratones tiene efectos inflamatorios pulmonares (278) e incluso su neutralización produce menos inflamación y daño pulmonar. Nosotros hemos correlacionado de forma negativa los niveles plasmáticos de HMGB1 con el daño pulmonar (mediante relación PaO₂/FiO₂) (Ver Figura 17A).

En cuanto a la utilización de HMGB1 como biomarcador pronóstico, destaca que en el estudio de Sundén-Cullberg (188) detectan valores más altos de HMGB1 entre los supervivientes vs fallecidos a los 28 días. Sin embargo, en el estudio de Gibot *et al* (187) a partir del tercer día las concentraciones de HMGB1 presentan valores más elevados entre fallecidos que entre supervivientes. En nuestro caso, teniendo en cuenta las limitaciones en cuanto a la ventana temporal de las primeras 24h de análisis de biomarcadores, tan solo detectamos una tendencia al aumento de HMGB1 en T0 para fallecidos en UCI vs supervivientes (Ver Tabla 16), y sí que objetivamos que la HMGB1 es el único biomarcador que distingue entre fallecidos y supervivientes tras 24h de TCRR, destacando la importancia de su determinación en este tipo de población. La controversia de encontrar resultados opuestos en la literatura, sobre todo analizando valores de HMGB1 hasta 7 días después del inicio de la sepsis, se puede entender por las capacidades otorgadas a la HMGB1 entre otras en la regeneración tisular (185) y el reclutamiento de células madre (184) que formarían parte de una fase tardía de recuperación de la respuesta inflamatoria, teniendo por lo tanto un doble papel: en fases más iniciales como DAMP e inducción de respuesta inflamatoria (37) y en fases más tardías como marcador de regeneración tisular.

Por lo tanto, a pesar de las limitaciones de nuestro estudio por la pequeña muestra de pacientes, y la ventana temporal de 24h de análisis de biomarcadores, podemos afirmar que la HMGB1 es un biomarcador útil en el paciente séptico sometido a TCRR, puesto que su determinación puede

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REPLAZO RENAL

ayudar en la identificación de pacientes con disfunción hemodinámica y respiratoria, y es un biomarcador pronóstico en pacientes sometidos a TCRR a las 24h puesto que su elevación se asocia con mortalidad (Ver Tabla 16). Para valorar si es o no una adecuada diana terapéutica como plantean algunos grupos (278) habría primero que determinar en qué momento sería óptimo hacerlo (respuesta inicial o más tardía) dada la asociación descrita entre HMGB1 y regeneración tisular.

Tras el análisis de todos estos biomarcadores puede observarse un comportamiento distinto: entre los parámetros clásicos, PCT e IL-6 sufren un descenso en las primeras 24h de TCRR, y PCR se mantiene estable; entre los más novedosos destaca su comportamiento relacionado con la mortalidad, donde los nucleosomas tienen una tendencia al aumento en T2 y la HMGB1 aumenta de manera significativa.

Algunas relaciones entre los biomarcadores clásicos son conocidas, como por ejemplo que la producción de PCT está mediada en parte por la IL-6 (107), y en nuestros pacientes también hallamos correlación entre ambas. Nucleosomas y HMGB1, como proteínas nucleares que son, tuvieron correlación entre ellos. Nos interesó la asociación que encontramos entre los biomarcadores clásicos y el resto: nucleosomas y PCT, HMGB1 e IL-6 y PCT, y destaca en 3 de los tiempos analizados la correlación negativa de PCR y nucleosomas. No podemos explicar la causa de que exista una correlación negativa entre la PCR y los nucleosomas.

Tras valorar el comportamiento de tres biomarcadores clásicos junto a dos proteínas nucleares que podrían servir como biomarcadores en un futuro próximo que vemos que se elevan en pacientes que fallecen en UCI, pensamos que estas últimas pueden ser objeto de estudio en este tipo de pacientes para identificar la respuesta a tratamientos precoces como las TCRR. La combinación de biomarcadores y no el análisis de cada uno por separado puede ofrecer al clínico una respuesta más fiable a las preguntas que se plantean al ingreso de un paciente en situación de shock séptico, tanto en el diagnóstico inicial como en la guía del tratamiento y para evaluar el pronóstico, y también identificar pacientes en riesgo de inmunosupresión asociada a la sepsis.

El análisis de HMGB1 y nucleosomas en pacientes en shock séptico sometidos a TCRR es una herramienta útil como biomarcador pronóstico identificando pacientes de extrema gravedad, contexto clínico en el que el resto de biomarcadores clásicos no son de utilidad. Es por ello que el análisis de nucleoproteínas debería incorporarse en la práctica clínica a paneles de biomarcadores, sobre todo en contextos clínicos complejos como las TCRR, dando información más fiable que la aportada por cada biomarcador por separado.

Por último, dada su relación con la mayoría de las disfunciones orgánicas, los nucleosomas pueden resultar biomarcadores útiles a la hora de evaluar la utilidad de la precocidad de las TCRR en la sepsis.

El desarrollo de un algoritmo diagnóstico basado en el conjunto de resultados presentados, asociado con las escalas de evaluación clínica y la información microbiológica podría dar lugar a

un nuevo paradigma a la hora de diagnosticar al paciente séptico. Así como mejorar el criterio de administración de la TCRR.

6.3 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La fisiopatología de la sepsis es compleja y polifacética, además de un reto clínico constante para los profesionales que trabajan en el ámbito de los cuidados críticos. Es patente la necesidad de disponer de marcadores y técnicas que optimicen las capacidades diagnósticas y pronósticas en la atención clínica de los pacientes en shock séptico. En el presente estudio se exploran el valor pronóstico de marcadores biológicos relativamente nuevos en la clínica, junto con otros marcadores clásicos, sus asociaciones y las repercusiones que sobre ellos tienen las TRR.

No obstante, sin menoscabo de las conclusiones que se exponen a continuación, cabe reconocer algunas limitaciones del estudio derivadas del tamaño muestral: condicionado por la incidencia de casos limitada por los criterios de inclusión exigidos, el consecuente tiempo de reclutamiento prolongado y el alto coste de las determinaciones analíticas de los biomarcadores explorados. Somos conscientes de la necesidad de ahondar en el estudio incorporando un mayor número de pacientes y ampliando los tiempos de recogida de las muestras en futuros estudios.

7 CONCLUSIONES

1. En pacientes en shock séptico sometidos a terapias continuas de remplazo renal, las concentraciones de nucleosomas y HMGB1 iniciales son elevadas y no se modifican por las TCRR.
2. Los biomarcadores clásicos como PCT e IL-6 descienden de manera global en pacientes críticos sépticos sometidos a TCRR, por lo que es cuestionable su utilidad para guiar el tratamiento o identificar perfiles de gravedad.
3. Las TCRR pueden lograr cierta inmunomodulación en la sepsis reduciendo citoquinas inflamatorias como la IL-6.
4. Los nucleosomas y la proteína nuclear HMGB1 presentan valores más elevados en casos de sepsis más precoces.
5. Tanto PCT, IL-6 como nucleosomas y HMGB1 correlacionan positivamente con las disfunciones orgánicas de los pacientes.
6. Los niveles de proteínas nucleares relacionadas con la cromatina se correlacionan con biomarcadores clásicos de sepsis.
7. Los pacientes críticos sépticos sometidos a TCRR fallecidos en UCI presentaron concentraciones más elevadas de HMGB1 a las 24 horas de iniciar TCRR, y también una tendencia al aumento de nucleosomas y al aumento de IL-6 a las 24h de iniciar TCRR.

8 BIBLIOGRAFÍA

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. Tercera definición de consenso internacional para sepsis y shock séptico (Sepsis-3). *Jama*. 2016;315(8):801–10.
2. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*. 1992;101(6):1644–55.
3. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003;31(4):1250–6.
4. Marshall JC, Cook DJ, Christou N V., Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ. Multiple organ dysfunction score: A reliable descriptor of a complex clinical outcome. Vol. 23, *Critical Care Medicine*. *Crit Care Med*; 1995. p. 1638–52.
5. Ferreira FL. Serial Evaluation of the SOFA Score. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2001;286(14):1754–8.
6. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA - J Am Med Assoc*. 2016;315(8):762–74.
7. Vincent JL, De Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. Vol. 26, *Critical Care Medicine*. Lippincott Williams and Wilkins; 1998. p. 1793–800.
8. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*. 2003;348(16):1546–54.
9. Walkey AJ, Lagu T, Lindenauer PK. Trends in sepsis and infection sources in the United States: A population-based study. *Ann Am Thorac Soc*. 2015 Feb 1;12(2):216–20.
10. Wang HE, Shapiro NI, Angus DC, Yealy DM. National estimates of severe sepsis in United States emergency departments. *Crit Care Med*. 2007;35(8):1928–36.
11. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;193:259–72.
12. Darbà J, Marsà A. Epidemiology, management and costs of sepsis in Spain (2008–2017): a retrospective multicentre study. *Curr Med Res Opin*. 2020;0(0):000.
13. Vincent J, Marshall J, Anzueto A, Martin CD, Gomersall C. International Study of the

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2009;302(21):2323–9.
14. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Crit Care Med.* 2006;34(2):344–53.
 15. Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, Peñuelas O, Lorente JÁ, Gordo F, et al. Sepsis incidence and outcome: Contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med.* 2007;35(5):1284–9.
 16. Martin CM, Priestap F, Fisher H, Fowler RA, Heyland DK, Keenan SP, et al. A prospective, observational registry of patients with severe sepsis: The Canadian Sepsis Treatment and Response Registry. *Crit Care Med.* 2009;37(1):81–8.
 17. Derek C. Angus, MD M. Epidemiology of sepsis. *Crit Care Med.* 2001;29(7):1303–10.
 18. Mayr FB, Yende S, Linde-Zwirble WT, Peck-Palmer OM, Barnato AE, Weissfeld LA, et al. Infection rate and acute organ dysfunction risk as explanations for racial differences in severe sepsis. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2010;303(24):2495–503.
 19. Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2014;311(13):1308–16.
 20. Levy MM, Artigas A, Phillips GS, Rhodes A, Beale R, Osborn T, et al. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: A prospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2012;12(12):919–24.
 21. Kumar G, Kumar N, Taneja A, Kaleekal T, Tarima S, McGinley E, et al. Nationwide trends of severe sepsis in the 21st century (2000-2007). *Chest.* 2011;140(5):1223–31.
 22. Azkárate I, Choperena G, Salas E, Sebastián R, Lara G, Elósegui I, et al. Epidemiología y factores pronósticos de la sepsis grave/shock séptico. Seis años de evolución. *Med Intensiva.* 2016;40(1):18–25.
 23. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. Vol. 43, *Intensive Care Medicine.* Springer Berlin Heidelberg; 2017. 304–377 p.
 24. Seymour CW, Gesten F, Prescott HC, Friedrich ME, Iwashyn TJ, Phillips GS, et al. Time to treatment and mortality during mandated emergency care for sepsis. *N Engl J Med.* 2017;376(23):2235–44.
 25. D.F. G, J.M. E, M.J. K, B.G. C. Benchmarking the incidence and mortality of severe sepsis in the united states. *Crit Care Med.* 2013;41(5):1167–74.
 26. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(1):862–74.
 27. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, et al.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2011 Dec 21;306(23):2594–605.
28. Hotchkiss RS, Coopersmith CM, McDunn JE, Ferguson TA. The sepsis seesaw: Tilting toward immunosuppression. Vol. 15, *Nature Medicine*. NIH Public Access; 2009. p. 496–7.
 29. Zanotti-Cavazzoni SL. Long-term Cognitive Impairment and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *Yearb Crit Care Med.* 2011;2011(16):188–90.
 30. Prescott HC, Angus DC. Enhancing recovery from sepsis: A review. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2018;319(1):62–75.
 31. Mira JC, Gentile LF, Mathias BJ, Efron PA, Brakenridge SC, Mohr AM, et al. Sepsis pathophysiology, chronic critical illness, and persistent inflammation-immunosuppression and catabolism syndrome. *Crit Care Med.* 2017;45(2):253–62.
 32. Iñigo J, Sendra JM, Díaz R, Bouza C, Sarría-Santamera A. Epidemiología y costes de la sepsis grave en Madrid. Estudio de altas hospitalarias. *Med Intensiva.* 2006;30(5):197–203.
 33. Antcliffe DB, Gordon AC. Why Understanding Sepsis Endotypes Is Important for Steroid Trials in Septic Shock. *Crit Care Med.* 2019;47(12):1782–4.
 34. Angus DC, Van Der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2013;369(9):840–51.
 35. Ruslan Medzhitov, Charles Janeway. Immune Recognition. *N Engl J Med.* 2000;(3):338–44.
 36. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell.* 2006;124(4):783–801.
 37. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol.* 2007;81(1):1–5.
 38. Zang Q, Raouf M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Wolfgang. Circulating Mitochondrial DAMPs Cause Inflammatory Responses to injury. *Nature.* 2010;464(7285):104–7.
 39. Timmermans K, Kox M, Scheffer GJ, Pickkers P. Danger in the intensive care unit: Damps in critically ill patients. *Shock.* 2016;45(2):108–16.
 40. Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature.* 2002;418(6894):191–5.
 41. Foell D, Wittkowski H, Vogl T, Roth J. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. *J Leukoc Biol.* 2007 Jan;81(1):28–37.
 42. Calderwood SK, Mambula SS, Gray PJ, Theriault JR. Extracellular heat shock proteins in cell signaling. Vol. 581, *FEBS Letters.* 2007. p. 3689–94.
 43. Clementi A, Virzi GM, Brocca A, Pastori S, De Cal M, Marcante S, et al. The Role of

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Cell-Free Plasma DNA in Critically Ill Patients with Sepsis. *Blood Purif.* 2016;41(1–3):34–40.
44. Bhagirath VC, Dwivedi DJ, Liaw PC. Comparison of the Proinflammatory and Procoagulant Properties of Nuclear, Mitochondrial, and Bacterial DNA. *Shock* [Internet]. 2015 Sep 18 [cited 2020 Jun 20];44(3):265–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25944792/>
 45. Vasilescu C, Rossi S, Shimizu M, Tudor S, Veronese A, Ferracin M, et al. MicroRNA fingerprints identify miR-150 as a plasma prognostic marker in patients with sepsis. *PLoS One.* 2009 Oct 12;4(10).
 46. Bierne H, Hamon M, Cossart P. Epigenetics and bacterial infections. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(12).
 47. Karikó K, Ni H, Capodici J, Lamphier M, Weissman D. mRNA Is an Endogenous Ligand for Toll-like Receptor 3. *J Biol Chem.* 2004 Mar 26;279(13):12542–50.
 48. Abrams ST, Zhang N, Manson J, Liu T, Dart C, Baluwa F, et al. Circulating histones are mediators of trauma-associated lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Jan 15;187(2):160–9.
 49. García-Giménez JL, Romá-Mateo C, Carbonell N, Palacios L, Peiró-Chova L, García-López E, et al. A new mass spectrometry-based method for the quantification of histones in plasma from septic shock patients. *Sci Rep.* 2017 Dec 1;7(1).
 50. Alhamdi Y, Abrams ST, Cheng Z, Jing S, Su D, Liu Z, et al. Circulating histones are major mediators of cardiac injury in patients with sepsis. *Crit Care Med.* 2015 Oct 1;43(10):2094–103.
 51. Paues Göranson S, Thålin C, Lundström A, Hållström L, Lasselin J, Wallén H, et al. Circulating H3Cit is elevated in a human model of endotoxemia and can be detected bound to microvesicles. *Sci Rep.* 2018 Dec 1;8(1).
 52. Fattahi F, Frydrych LM, Bian G, Kalbitz M, Herron TJ, Malan EA, et al. Role of complement C5a and histones in septic cardiomyopathy. *Mol Immunol.* 2018;102:32–41.
 53. Foell D, Wittkowski H, Roth J. Mechanisms of Disease: A “DAMP” view of inflammatory arthritis. Vol. 3, *Nature Clinical Practice Rheumatology.* 2007. p. 382–90.
 54. Boteanu RM, Suica VI, Uyy E, Ivan L, Dima SO, Popescu I, et al. Alarmins in chronic noncommunicable diseases: Atherosclerosis, diabetes and cancer. Vol. 153, *Journal of Proteomics.* Elsevier B.V.; 2017. p. 21–9.
 55. Mollen KP, Anand RJ, Tsung A, Prince JM, Levy RM, Billiar TR. Emerging paradigm: Toll-like receptor 4 - Sentinel for the detection of tissue damage. *Shock.* 2006;26(5):430–7.
 56. Bosmann M, Ward PA. The inflammatory response in sepsis. *Trends Immunol.*

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- 2013;34(3):129–36.
57. Sollberger G, Tilley DO, Zychlinsky A. Neutrophil Extracellular Traps: The Biology of Chromatin Externalization. *Dev Cell*. 2018;44(5):542–53.
 58. Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, Hoesel B, Schoergenhofer C, Datler H, et al. Cell type specific roles of nf-kb linking inflammation and thrombosis. *Front Immunol*. 2019;10(FEB).
 59. Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2017;377(6):562–72.
 60. Santos SS, Brunialti MKC, Rigato O, MacHado FR, Silva E, Salomao R. Generation of nitric oxide and reactive oxygen species by neutrophils and monocytes from septic patients and association with outcomes. *Shock*. 2012;38(1):18–23.
 61. Leligdowicz A, Richard-Greenblatt M, Wright J, Crowley VM, Kain KC. Endothelial activation: The Ang/Tie axis in sepsis. *Front Immunol*. 2018;9(APR):1–15.
 62. Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. Vol. 24, *Critical Care Medicine*. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health); 1996. p. 1125–6.
 63. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmiege RE, Hui JJ, Chang KC, et al. Sepsis-Induced Apoptosis Causes Progressive Profound Depletion of B and CD4 + T Lymphocytes in Humans. *J Immunol*. 2001 Jun 1;166(11):6952–63.
 64. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. Vol. 27, *Critical Care Medicine*. *Crit Care Med*; 1999. p. 1230–51.
 65. van der Poll T, Opal SM. Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(1):32–43.
 66. Ward PA. Immunosuppression in sepsis. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2011;306(23):2618–9.
 67. Skirecki T, Borkowska-Zielińska U, Złotorowicz M, Hoser G. Sepsis immunopathology: Perspectives of monitoring and modulation of the immune disturbances. Vol. 60, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*; 2012. p. 123–35.
 68. Malakooti M, Kelleher M, Wald E. Immune dysregulation in sepsis. *Clin Pediatr Emerg Med*. 2014;15(2):163–8.
 69. 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. *J Infect Dis*. 2000 Jan;181(1):176–80.
 70. Drewry AM, Samra N, Skrupky LP, Fuller BM, Compton SM, Hotchkiss RS, et al. Persistent Lymphopenia after Diagnosis of Sepsis Predicts Mortality. *Shock*. 2014;42(5):383–91.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

71. Beltrán-García J, Osca-Verdegal R, Romá-Mateo C, Carbonell N, Ferreres J, Rodríguez M, et al. Epigenetic biomarkers for human sepsis and septic shock: insights from immunosuppression. *Epigenomics*. 2020;
72. Venet F, Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(2):121–37.
73. Marshall JC. Such stuff as dreams are made on: Mediator-directed therapy in sepsis. *Nat Rev Drug Discov*. 2003;2(5):391–405.
74. Levi M, Van Der Poll T. Inflammation and coagulation. *Crit Care Med*. 2010;38(SUPPL. 2).
75. Goh C, Knight JC. Enhanced understanding of the host–pathogen interaction in sepsis: new opportunities for omic approaches. Vol. 5, *The Lancet Respiratory Medicine*. Lancet Publishing Group; 2017. p. 212–23.
76. Carson IV WF, Cavassani KA, Dou Y, Kunkel SL. Epigenetic regulation of immune cell functions during post-septic immunosuppression. Vol. 6, *Epigenetics*. Taylor and Francis Inc.; 2011. p. 273–83.
77. Leentjens J, Kox M, Van Der Hoeven JG, Netea MG, Pickkers P. Immunotherapy for the adjunctive treatment of sepsis: From immunosuppression to immunostimulation time for a paradigm change? Vol. 187, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. *Am J Respir Crit Care Med*; 2013. p. 1287–93.
78. McCall CE, Yoza B, Liu T, El Gazzar M. Gene-specific epigenetic regulation in serious infections with systemic inflammation. Vol. 2, *Journal of Innate Immunity*. *J Innate Immun*; 2010. p. 395–405.
79. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. Vol. 293, *Science*. American Association for the Advancement of Science; 2001. p. 1074–80.
80. Pieterse E, Hofstra J, Berden J, Herrmann M, Dieker J, van der Vlag J. Acetylated histones contribute to the immunostimulatory potential of neutrophil extracellular traps in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol*. 2015 Jan 1;179(1):68–74.
81. Dieker JW, Fransen JH, Van Bavel CC, Briand JP, Jacobs CW, Muller S, et al. Apoptosis-induced acetylation of histones is pathogenic in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2007 Jun;56(6):1921–33.
82. Iba T, Ogura H. Role of extracellular vesicles in the development of sepsis-induced coagulopathy. Vol. 6, *Journal of Intensive Care*. BioMed Central Ltd.; 2018.
83. Pérez-Cremades D, Bueno-Betí C, García-Giménez JL, Ibañez-Cabellos JS, Hermenegildo C, Pallardó F V., et al. Extracellular histones disarrange vasoactive mediators release through a COX-NOS interaction in human endothelial cells. *J Cell Mol Med*. 2017;21(8):1584–92.
84. Toh CH, Alhamdi Y. Recent advances in pathophysiology of disseminated intravascular

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- coagulation: The role of circulating histones and neutrophil extracellular traps. Vol. 6, F1000Research. Faculty of 1000 Ltd; 2017.
85. Sharma A, Singh K, Almasan A. Histone H2AX Phosphorylation: A Marker for DNA Damage. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ). *Methods Mol Biol*; 2012. p. 613–26.
 86. Semeraro F, Ammollo CT, Morrissey JH, Dale GL, Friese P, Esmon NL, et al. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: Involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood*. 2011 Aug 18;118(7):1952–61.
 87. Pérez-Cremades D, Bueno-Betí C, García-Giménez JL, Ibañez-Cabellos JS, Hermenegildo C, Pallardó F V., et al. Extracellular histones disarrange vasoactive mediators release through a COX-NOS interaction in human endothelial cells. *J Cell Mol Med*. 2017 Aug 1;21(8):1584–92.
 88. Antonucci E, Fiaccadori E, Donadello K, Taccone FS, Franchi F, Scolletta S. Myocardial depression in sepsis: From pathogenesis to clinical manifestations and treatment. Vol. 29, *Journal of Critical Care*. W.B. Saunders; 2014. p. 500–11.
 89. Hosokawa K, Gaspard N, Su F, Oddo M, Vincent JL, Taccone SS. Clinical neurophysiological assessment of sepsis-associated brain dysfunction: A systematic review. *Crit Care*. 2014 Dec 8;18(1).
 90. Gofton TE, Bryan Young G. Sepsis-associated encephalopathy. Vol. 8, *Nature Reviews Neurology*. *Nat Rev Neurol*; 2012. p. 557–66.
 91. Simmons J, Pittet JF. The coagulopathy of acute sepsis. Vol. 28, *Current Opinion in Anaesthesiology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2015. p. 227–36.
 92. Levi M, Trombosis T van der P-I sobre, 2017 U. *Coagulación y sepsis*. Elsevier.
 93. Yan J, Li S, Li S. The role of the liver in sepsis. Vol. 33, *International Reviews of Immunology*. Informa Healthcare; 2014. p. 498–510.
 94. Raith EP, Udy AA, Bailey M, McGloughlin S, MacIsaac C, Bellomo R, et al. Prognostic accuracy of the SOFA score, SIRS criteria, and qSOFA score for in-hospital mortality among adults with suspected infection admitted to the intensive care unit. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2017 Jan 17;317(3):290–300.
 95. Freund Y, Lemachatti N, Krastinova E, Van Laer M, Claessens YE, Avondo A, et al. Prognostic accuracy of sepsis-3 criteria for in-hospital mortality among patients with suspected infection presenting to the emergency department. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2017 Jan 17;317(3):301–8.
 96. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The surviving sepsis campaign bundle: 2018 update. *Crit Care Med*. 2018;46(6):997–1000.
 97. Simpson SQ. New sepsis criteria A change we should not make. Vol. 149, *Chest*.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Elsevier B.V.; 2016. p. 1117–8.
98. Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. Vol. 69, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2001. p. 89–95.
 99. Kaplan JM, Wong HR. Biomarker discovery and development in pediatric critical care medicine. Vol. 12, *Pediatric Critical Care Medicine*. Lippincott Williams and Wilkins; 2011. p. 165–73.
 100. Marshall JC, Reinhart K. Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med*. 2009;37(7):2290–8.
 101. van Engelen TSR, Wiersinga WJ, Scicluna BP, van der Poll T. Biomarkers in Sepsis. *Crit Care Clin*. 2018;34(1):139–52.
 102. Maruna P, Nedelnikova R, Gürlich R. Physiology and Genetics of Procalcitonin. *Physiol Res*. 2000;49:S57–61.
 103. Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: A harmful biomarker and a therapeutic target. Vol. 159, *British Journal of Pharmacology*. 2010. p. 253–64.
 104. Schuetz P, Briel M, Christ-Crain M, Stolz D, Bouadma L, Wolff M, et al. Procalcitonin to guide initiation and duration of antibiotic treatment in acute respiratory infections: An individual patient data meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2012;55(5):651–62.
 105. Watanabe Y, Oikawa N, Hariu M, Fuke R, Seki M. Ability of procalcitonin to diagnose bacterial infection and bacteria types compared with blood culture findings. *Int J Gen Med*. 2016 Sep 30;9:325–31.
 106. Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994;79(6):1605–8.
 107. Nakamura M, Kono R, Nomura S, Utsunomiya H. Procalcitonin : Mysterious Protein in Sepsis. *J Basic Clin Med*. 2013;2(15):3–7.
 108. Nylén ES, Al Arifi A, Becker KL, Snider RH, Alzeer A. Effect of classic heatstroke on serum procalcitonin. *Crit Care Med*. 1997 Aug;25(8):1362–5.
 109. Barati M, Alinejad F, Bahar MA, Tabrisi MS, Shamshiri AR, Bodouhi N ol lahe, et al. Comparison of WBC, ESR, CRP and PCT serum levels in septic and non-septic burn cases. *Burns*. 2008 Sep;34(6):770–4.
 110. Nylén ES, Snider RH, Thompson KA, Rohatgi P, Becker KL. Pneumonitis-associated hyperprocalcitoninemia. *Am J Med Sci*. 1996;312(1):12–8.
 111. Mimos O, Benoist JF, Edouard AR, Assicot M, Bohuon C, Samii K. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med*. 1998;24(2):185–8.
 112. Meisner M, Tschalkowsky K, Hutzler A, Schick C, Schüttler J. Postoperative plasma

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med.* 1998;24(7):680–4.
113. Hensel M, Volk T, Döcke WD, Kern F, Tschirna D, Egerer K, et al. Hyperprocalcitonemia in patients with noninfectious SIRS and pulmonary dysfunction associated with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology.* 1998 Jul;89(1):93–104.
 114. Reinhart K, Meisner M. Biomarkers in the Critically Ill Patient: Procalcitonin. Vol. 27, *Critical Care Clinics.* Elsevier; 2011. p. 253–63.
 115. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(5):426–35.
 116. Haeuptle J, Zaborsky R, Fiumefreddo R, Trampuz A, Steffen I, Frei R, et al. Prognostic value of procalcitonin in *Legionella pneumonia*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009 Jan;28(1):55–60.
 117. Jensen JU, Heslet L, Jensen TH, Espersen K, Steffensen P, Tvede M. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med.* 2006 Oct;34(10):2596–602.
 118. van Nieuwkoop C, Bonten TN, van't Wout JW, Kuijper EJ, Groeneveld GH, Becker MJ, et al. Procalcitonin reflects bacteremia and bacterial load in urosepsis syndrome: a prospective observational study. *Crit Care.* 2010;14(6).
 119. Schuetz P, Mueller B, Trampuz A. Serum procalcitonin for discrimination of blood contamination from bloodstream infection due to coagulase-negative staphylococci. *Infection.* 2007 Oct;35(5):352–5.
 120. Pecile P, Miorin E, Romanello C, Falletti E, Valent F, Giacomuzzi F, et al. Procalcitonin: A Marker of Severity of Acute Pyelonephritis Among Children. *Pediatrics.* 2004 Aug 1;114(2):e249–54.
 121. Knudsen JB, Fuursted K, Petersen E, Wierup P, Mølgaard H, Poulsen SH, et al. Procalcitonin in 759 patients clinically suspected of infective endocarditis. *Am J Med.* 2010 Dec;123(12):1121–7.
 122. Markogiannakis H, Memos N, Messaris E, Dardamanis D, Larentzakis A, Papanikolaou D, et al. Predictive value of procalcitonin for bowel ischemia and necrosis in bowel obstruction. *Surgery.* 2011 Mar;149(3):394–403.
 123. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum Procalcitonin and C-Reactive Protein Levels as Markers of Bacterial Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2004 Jul 15;39(2):206–17.
 124. 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. *J Infect Dis.* 2000 Jan;181(1):176–80.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

125. Müller B, Harbarth S, Stolz D, Bingisser R, Mueller C, Leuppi J, et al. Diagnostic and prognostic accuracy of clinical and laboratory parameters in community-acquired pneumonia. *BMC Infect Dis*. 2007 Mar 2;7.
126. Arora S, Singh P, Singh PM, Trikha A. Procalcitonin levels in survivors and nonsurvivors of sepsis: Systematic review and meta-analysis. *Shock*. 2015;43(3):212–21.
127. Schuetz P, Wirz Y, Sager R, Christ-Crain M, Stolz D, Tamm M, et al. Procalcitonin to initiate or discontinue antibiotics in acute respiratory tract infections. Vol. 2017, *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd; 2017.
128. Westwood M, Ramaekers B, Whiting P, Tomini F, Joore M, Armstrong N, et al. Procalcitonin testing to guide antibiotic therapy for the treatment of sepsis in intensive care settings and for suspected bacterial infection in emergency department settings: A systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess (Rockv)*. 2015 Nov 1;19(96):3–236.
129. Soni NJ, Samson DJ, Galaydick JL, Vats V, Huang ES, Aronson N, et al. Procalcitonin-guided antibiotic therapy: A systematic review and meta-analysis. Vol. 8, *Journal of Hospital Medicine*. *J Hosp Med*; 2013. p. 530–40.
130. Schuetz P, Birkhahn R, Sherwin R, Jones AE, Singer A, Kline JA, et al. Serial procalcitonin predicts mortality in severe sepsis patients: Results from the multicenter procalcitonin monitoring SEpsis (MOSES) Study. *Crit Care Med*. 2017 May 1;45(5):781–9.
131. Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, Cracco C, Alvarez A, Schwebel C, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2010;375(9713):463–74.
132. de Jong E, van Oers JA, Beishuizen A, Vos P, Vermeijden WJ, Haas LE, et al. Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: A randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jul 1;16(7):819–27.
133. Schuetz P, Wirz Y, Sager R, Christ-Crain M, Stolz D, Tamm M, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on mortality in acute respiratory infections: a patient level meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2018 Jan 1;18(1):95–107.
134. Andriolo B, Andriolo R, Salomão R, Atallah A. Effectiveness and safety of procalcitonin evaluation for reducing mortality in adults with sepsis , severe sepsis or septic shock (Review) SUMMARY OF FINDINGS FOR THE MAIN COMPARISON. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;(1):CD010959.
135. Meisner M, Lohs T, Huettemann E, Schmidt J, Hueller M, Reinhart K. The plasma

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- elimination rate and urinary secretion of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function. *Eur J Anaesthesiol.* 2001;18(2):79–87.
136. Dahaba AA, Elawady GA, Rehak PH, List WF. Procalcitonin and proinflammatory cytokine clearance during continuous venovenous haemofiltration in septic patients. *Anaesth Intensive Care.* 2002;30(3):269–74.
137. Dahaba AA, Rehak PH, List WF. Procalcitonin and C-reactive protein plasma concentrations in nonseptic uremic patients undergoing hemodialysis. *Intensive Care Med.* 2003 Apr 1;29(4):579–83.
138. Level C, Chauveau P, Guisset O, Cazin M, Lasseur C, Gabinsky C, et al. Mass transfer, clearance and plasma concentration of procalcitonin during continuous venovenous hemofiltration in patients with septic shock and acute oliguric renal failure. *Crit Care.* 2003;7(6):R160.
139. Honoré PM, Jacobs R, De Waele E, Van Gorp V, Spapen HD. Evaluating sepsis during continuous dialysis: Are biomarkers still valid? Vol. 38, *Blood Purification.* S. Karger AG; 2014. p. 104–5.
140. Eddie G, Mackenzie T. Use of Procalcitonin in Patients with Various Degrees of Chronic Kidney Disease Including Renal Replacement Therapy. *Clin Infect Dis.* 2014;1–19.
141. Nakamura Y, Murai A, Mizunuma M, Ohta D, Kawano Y, Matsumoto N, et al. Potential use of procalcitonin as biomarker for bacterial sepsis inpatients with or without acute kidney injury. *J Infect Chemother.* 2015 Apr 1;21(4):257–63.
142. Ablij HC, Meinders AE. C-reactive protein: History and revival. Vol. 13, *European Journal of Internal Medicine.* *Eur J Intern Med*; 2002. p. 412–22.
143. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. Vol. 107, *Circulation.* *Circulation*; 2003. p. 363–9.
144. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *J Emerg Med.* 1999;17(6):1019–25.
145. Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, et al. C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11(2):101–8.
146. Póvoa P, Almeida E, Moreira P, Fernandes A, Mealha R, Aragão A, et al. C-reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Med.* 1998;24(10):1052–6.
147. Matson A, Soni N, Sheldon J. C-reactive protein as a diagnostic test of sepsis in the critically ill. *Anaesth Intensive Care.* 1991;19(2):182–6.
148. 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 Jun;36(3):213–9.
149. Lobo SMA, Lobo FRM, Peres Bota D, Lopes-Ferreira F, Soliman HM, Mélot C, et al.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically III patients. *Chest*. 2003 Jun 1;123(6):2043–9.
150. Taylor KE, Van Den Berg CW. Structural and functional comparison of native pentameric, denatured monomeric and biotinylated C-reactive protein. *Immunology*. 2007 Mar;120(3):404–11.
151. Honore PM, Jacobs R, Joannes-Boyau O, De Regt J, De Waele E, van Gorp V, et al. Newly Designed CRRT Membranes for Sepsis and SIRS—A Pragmatic Approach for Bedside Intensivists Summarizing the More Recent Advances. *ASAIO J*. 2013 Mar;59(2):99–106.
152. Grandi F, Bolasco P, Palladino G, Sereni L, Caiazzo M, Atti M, et al. Adsorption in Extracorporeal Blood Purification: How to Enhance Solutes Removal Beyond Diffusion and Convection. In: *Hemodialysis*. InTech; 2013.
153. Su D-H, Zhuo C, Liao K, Cheng W-B, Cheng H, Zhao X-F. Value of serum procalcitonin levels in predicting spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatogastroenterology*. 2013 Jun;60(124):641–6.
154. Suberviola B, Castellanos-Ortega A, González-Castro A, García-Astudillo LA, Fernández-Miret B. Valor pronóstico del aclaramiento de procalcitonina, PCR y leucocitos en el shock séptico. *Med Intensiva*. 2012;36(3):177–84.
155. Heinrich PC, Castell J V., Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J*. 1990;265(3):621–36.
156. Thompson DK, Huffman KM, Kraus WE, Kraus VB. Critical appraisal of four IL-6 immunoassays. Stoddart CA, editor. *PLoS One*. 2012 Feb 9;7(2):e30659.
157. Jekarl DW, Lee SY, Lee J, Park YJ, Kim Y, Park JH, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013;75(4):342–7.
158. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE, et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Aug 1;164(3):396–402.
159. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: Focus on muscle-derived interleukin-6. Vol. 88, *Physiological Reviews*. *Physiol Rev*; 2008. p. 1379–406.
160. Wei J, Xu H, Davies JL, Hemmings GP. Increase of plasma IL-6 concentration with age in healthy subjects. *Life Sci*. 1992;51(25):1953–6.
161. Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL. Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor- α and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma. *Crit Care Med*. 1997;25(11):1813–9.
162. Gebhard F, Pfetsch H, Steinbach G, Strecker W, Kinzl L, Brückner UB. Is interleukin 6 an early marker of injury severity following major trauma in humans? *Arch Surg*. 2000

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Mar 1;135(3):291–5.
163. Berney T, Gasche Y, Robert J, Jenny A, Mensi N, Grau G, et al. Serum profiles of interleukin-6, interleukin-8, and interleukin-10 in patients with severe and mild acute pancreatitis. *Pancreas*. 1999;18(4):371–7.
 164. Geppert A, Steiner A, Zorn G, Delle-Karth G, Koreny M, Haumer M, et al. Multiple organ failure in patients with cardiogenic shock is associated with high plasma levels of interleukin-6. *Crit Care Med*. 2002 Sep 1;30(9):1987–94.
 165. Ramírez P, Ferrer M, Gimeno R, Tormo S, Valencia M, Piñer R, et al. Systemic inflammatory response and increased risk for ventilator-associated pneumonia: A preliminary study. *Crit Care Med*. 2009;37(5):1691–5.
 166. Tsantes A, Tsangaris I, Kopterides P, Kapsimali V, Antonakos G, Zerva A, et al. The role of procalcitonin and IL-6 in discriminating between septic and non-septic causes of ALI/ARDS: A prospective observational study. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51(7):1535–42.
 167. Zhao Y, Li C. Diagnostic value of a combination of biomarkers in patients with sepsis and severe sepsis in emergency department. *Chinese Crit Care Med*. 2014;26(3):153–8.
 168. Tromp M, Lansdorp B, Bleeker-Rovers CP, Gunnewiek JMK, Kullberg BJ, Pickkers P. Serial and panel analyses of biomarkers do not improve the prediction of bacteremia compared to one procalcitonin measurement. *J Infect*. 2012 Oct;65(4):292–301.
 169. Pallás Beneyto LA, Rodríguez Luis O, Saiz Sánchez C, Cotell Simón O, Bautista Rentero D, Miguel Bayarri V. Valor pronóstico de la interleucina 6 en la mortalidad de pacientes con sepsis. *Med Clin (Barc)*. 2016 Oct 7;147(7):281–6.
 170. Iwase S, Nakada T aki, Hattori N, Takahashi W, Takahashi N, Aizimu T, et al. Interleukin-6 as a diagnostic marker for infection in critically ill patients: A systematic review and meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2019;37(2):260–5.
 171. Dolin HH, Papadimos TJ, Stepkowski S, Chen X, Pan ZK. A Novel Combination of Biomarkers to Herald the Onset of Sepsis Prior to the Manifestation of Symptoms. *Shock*. 2018;49(4):364–70.
 172. Julián-Jiménez A, Candel-González FJ, González Del Castillo J. Utilidad de los biomarcadores de inflamación e infección en los servicios de urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(3):177–90.
 173. Woodcock CL, Dimitrov S. Higher-order structure of chromatin and chromosomes. *Curr Opin Genet Dev*. 2001;11(2):130–5.
 174. Nucleosoma | NHGRI [Internet]. [cited 2020 Jul 8]. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Nucleosoma>
 175. Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med*. 2009 Nov;15(11):1318–21.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

176. Ekaney ML, Otto GP, Sossdorf M, Sponholz C, Boehringer M, Loesche W, et al. Impact of plasma histones in human sepsis and their contribution to cellular injury and inflammation. *Crit Care*. 2014;18(5):1–9.
177. Chen QX, Ye L, Jin YH, Zhang N, Lou TZ, Qiu ZL, et al. Circulating nucleosomes as a predictor of sepsis and organ dysfunction in critically ill patients. *Int J Infect Dis*. 2012;16(7):558–64.
178. Zeerleder S, Zwart B, Wuillemin WA, Aarden LA, Groeneveld ABJ, Caliezi C, et al. Elevated nucleosome levels in systemic inflammation and sepsis. *Crit Care Med*. 2003 Jul 1;31(7):1947–51.
179. Zeerleder S, Stephan F, Emonts M, De Kleijn ED, Esmon CT, Varadi K, et al. Circulating nucleosomes and severity of illness in children suffering from meningococcal sepsis treated with protein C. *Crit Care Med*. 2012 Dec 1;40(12):3224–9.
180. Conway SR, Wong HR. Biomarker Panels in Critical Care. *Crit Care Clin*. 2020;36(1):89–104.
181. Liu S, Stolz DB, Sappington PL, Macias CA, Killeen ME, Tenhunen JJ, et al. HMGB1 is secreted by immunostimulated enterocytes and contributes to cytomix-induced hyperpermeability of Caco-2 monolayers. *Am J Physiol - Cell Physiol*. 2006 Apr;290(4).
182. Porto A, Palumbo R, Pieroni M, Aprigliano G, Chiesa R, Sanvito F, et al. Smooth muscle cells in human atherosclerotic plaques secrete and proliferate in response to high mobility group box 1 protein. *FASEB J*. 2006 Dec;20(14):2565–6.
183. Limana F, Germani A, Zacheo A, Kajstura J, Di Carlo A, Borsellino G, et al. Exogenous high-mobility group box 1 protein induces myocardial regeneration after infarction via enhanced cardiac C-kit⁺ cell proliferation and differentiation. *Circ Res*. 2005;97(8).
184. Palumbo R, Sampaolesi M, De Marchis F, Tonlorenzi R, Colombetti S, Mondino A, et al. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation. *J Cell Biol*. 2004 Feb 2;164(3):441–9.
185. Germani A, Limana F, Capogrossi MC. Pivotal Advances: High-mobility group box 1 protein-a cytokine with a role in cardiac repair. *J Leukoc Biol*. 2007 Jan;81(1):41–5.
186. Wang H, Bloom O, Zhang M, Vishnubhakat JM, Ombrellino M, Che J, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science (80-)*. 1999 Jul 9;285(5425):248–51.
187. Gibot S, Massin F, Cravoisy A, Barraud D, Nace L, Levy B, et al. High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock. *Intensive Care Med*. 2007 Aug;33(8):1347–53.
188. Sundén-Cullberg J, Norrby-Teglund A, Rouhiainen A, Rauvala H, Herman G, Tracey KJ, et al. Persistent elevation of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. 2005 Mar;33(3):564–73.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

189. Hoste EAJ, Bagshaw SM, Bellomo R, Cely CM, Colman R, Cruz DN, et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive Care Med.* 2015;41(8):1411–23.
190. Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, Barsoum RS, Burdmann EA, Goldstein SL, et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) acute kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int Suppl.* 2012;2(1):1–138.
191. Bouchard J, Acharya A, Cerda J, Maccariello ER, Madarasu RC, Tolwani AJ, et al. A prospective international multicenter study of AKI in the intensive care unit. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015 Aug 7;10(8):1324–31.
192. Lopes JA, Jorge S, Resina C, Santos C, Pereira Á, Neves J, et al. Acute kidney injury in patients with sepsis: a contemporary analysis. *Int J Infect Dis.* 2009 Mar;13(2):176–81.
193. Herrera-Gutiérrez ME, Seller-Pérez G, Maynar-Moliner J, Sánchez-Izquierdo-Riera JA. Epidemiología del fracaso renal agudo en las UCI Españolas. Estudio prospectivo multicéntrico FRAMI. *Med Intensiva.* 2006;30(6):260–7.
194. Bagshaw SM, Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: Clinical characteristics and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007 May 1;2(3):431–9.
195. Gordon AC, Mason AJ, Thirunavukkarasu N, Perkins GD, Cecconi M, Cepkova M, et al. Effect of early vasopressin vs norepinephrine on kidney failure in patients with septic shock: The VANISH randomized clinical trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2016;316(5):509–18.
196. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: A multinational, multicenter study. *J Am Med Assoc.* 2005 Aug 17;294(7):813–8.
197. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C, Wald R, Martensson J, Maiden M, et al. Acute kidney injury in sepsis. *Intensive Care Med.* 2017;43(6):816–28.
198. Bernier-Jean A, Beaubien-Souligny W, Goupil R, Madore F, Paquette F, Troyanov S, et al. Diagnosis and outcomes of acute kidney injury using surrogate and imputation methods for missing preadmission creatinine values. *BMC Nephrol.* 2017 Apr 28;18(1):141.
199. Murray PT, Devarajan P, Levey AS, Eckardt KU, Bonventre J V., Lombardi R, et al. A framework and key research questions in AKI diagnosis and staging in different environments. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008 May 1;3(3):864–8.
200. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, Haase-Fielitz A, Egi M, Morimatsu H, et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med.* 2010 Mar;36(3):452–61.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

201. Honore PM, Nguyen HB, Gong M, Chawla LS, Bagshaw SM, Artigas A, et al. Urinary Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 and Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein 7 for Risk Stratification of Acute Kidney Injury in Patients with Sepsis. *Crit Care Med*. 2016 Oct 1;44(10):1851–60.
202. Matejovic M, Valesova L, Benes J, Sykora R, Hrstka R, Chvojka J. Molecular differences in susceptibility of the kidney to sepsis-induced kidney injury. *BMC Nephrol*. 2017 May 31;18(1).
203. Schrier RW, Wang W. Acute Renal Failure and Sepsis. *N Engl J Med*. 2004 Jul 8;351(2):159–69.
204. Langenberg C, Wan L, Egi M, May CN, Bellomo R. Renal blood flow in experimental septic acute renal failure. *Kidney Int*. 2006 Jun;69(11):1996–2002.
205. Di Giantomasso D, May CN, Bellomo R. Vital organ blood flow during hyperdynamic sepsis. *Chest*. 2003 Sep 1;124(3):1053–9.
206. Mariano F, Cantaluppi V, Stella M, Romanazzi GM, Assenzio B, Cairo M, et al. Circulating plasma factors induce tubular and glomerular alterations in septic burns patients. *Crit Care*. 2008 Mar 25;12(2):R42.
207. Cantaluppi V, Quercia AD, Dellepiane S, Ferrario S, Camussi G, Biancone L. Interaction between systemic inflammation and renal tubular epithelial cells. Vol. 29, *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2014. p. 2004–11.
208. Dellepiane S, Marengo M, Cantaluppi V. Detrimental cross-talk between sepsis and acute kidney injury: New pathogenic mechanisms, early biomarkers and targeted therapies. Vol. 20, *Critical Care*. BioMed Central Ltd.; 2016.
209. Lopes JA, Jorge S, Resina C, Santos C, Pereira Á, Neves J, et al. Acute renal failure in patients with sepsis. Vol. 11, *Critical Care*. *Crit Care*; 2007.
210. Hoste EAJ, Kellum JA, Selby NM, Zarbock A, Palevsky PM, Bagshaw SM, et al. Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(10):607–25.
211. Bagshaw SM, Lapinsky S, Dial S, Arabi Y, Dodek P, Wood G, et al. Acute kidney injury in septic shock: Clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy. *Intensive Care Med*. 2009 May;35(5):871–81.
212. Ronco C, Ricci Z. Renal replacement therapies: Physiological review. Vol. 34, *Intensive Care Medicine*. Springer Verlag; 2008. p. 2139–46.
213. Bell M, Granath F, Schön S, Ekblom A, Martling CR. Continuous renal replacement therapy is associated with less chronic renal failure than intermittent haemodialysis after acute renal failure. *Intensive Care Med*. 2007 May;33(5):773–80.
214. Wald R, Shariff SZ, Adhikari NKJ, Bagshaw SM, Burns KEA, Friedrich JO, et al. The association between renal replacement therapy modality and long-term outcomes among

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- critically ill adults with acute kidney injury: A retrospective cohort study. *Crit Care Med.* 2014;42(4):868–77.
215. Wang AY, Bellomo R. Renal replacement therapy in the ICU: intermittent hemodialysis, sustained low-efficiency dialysis or continuous renal replacement therapy? Vol. 24, *Current opinion in critical care.* NLM (Medline); 2018. p. 437–42.
216. Fayad AII, Buamscha DG, Ciapponi A. Timing of renal replacement therapy initiation for acute kidney injury. Vol. 2018, *Cochrane Database of Systematic Reviews.* John Wiley and Sons Ltd; 2018.
217. Neri M, Villa G, Garzotto F, Bagshaw S, Bellomo R, Cerda J, et al. Nomenclature for renal replacement therapy in acute kidney injury: Basic principles. *Crit Care.* 2016;20(1):1–11.
218. Honore PM, Spapen HD. What a clinician should know about a renal replacement membrane? *J Transl Intern Med.* 2018;6(2):62–5.
219. Ronco C. The haemodialysis system: basic mechanisms of water and solute transport in extracorporeal renal replacement therapies. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13(90006):3–9.
220. Lorenzo V, Lopez JM. *Principios Físicos en Hemodiálisis.* Nefrol al día. 2019;
221. Karkar A, Ronco C. Prescription of CRRT: a pathway to optimize therapy. Vol. 10, *Annals of Intensive Care.* Springer; 2020.
222. Wetering J Van De, Hoeven D. Use in Continuous Renal Replacement Procedures : *J Am Soc Nephrol.* 1996;145–50.
223. Baglin T, Barrowcliffe TW, Cohen A, Greaves M. Guidelines on the use and monitoring of heparin. *Br J Haematol.* 2006;133(1):19–34.
224. Smythe MA, Priziola J, Dobesh PP, Wirth D, Cuker A, Wittkowsky AK. Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis.* 2016 Jan 1;41(1):165–86.
225. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest.* 1994;93(1):81–8.
226. Kindgen-Milles D, Brandenburger T, Dimski T. Regional citrate anticoagulation for continuous renal replacement therapy. Vol. 24, *Current opinion in critical care.* NLM (Medline); 2018. p. 450–4.
227. Poch E, Liaño F, Gaínza FJ. Manejo de la disfunción aguda del riñón del paciente crítico en la práctica clínica. 2011. 167 p.
228. Clark WR, Hamburger RJ, Lysaght MJ. Effect of membrane composition and structure on solute removal and biocompatibility in hemodialysis. *Kidney Int.* 1999 Dec 1;56(6):2005–15.

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

229. Clark WR, Gao D. Properties of membranes used for hemodialysis therapy. Vol. 15, *Seminars in Dialysis*. Semin Dial; 2002. p. 191–5.
230. Ronco C, Clark WR. Haemodialysis membranes. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(6):394–410.
231. Ronco C, Brendolan A, Crepaldi C, Rodighiero M, Scabardi M. Blood and dialysate flow distributions in hollow-fiber hemodialyzers analyzed by computerized helical scanning technique. *J Am Soc Nephrol*. 2001;13(SUPPL. 1):53–61.
232. Ronco C. Hemodiafiltration: Evolution of a technique towards better dialysis care. *Contrib Nephrol*. 2011;168:19–27.
233. Ronco C, Neri M, Lorenzin A, Garzotto F, Clark WR. Multidimensional Classification of Dialysis Membranes. *Contrib Nephrol*. 2017;191:115–26.
234. Ronco C, Crepaldi C, Brendolan A, Bragantini L, d’Intini V, Inguaggiato P, et al. Evolution of synthetic membranes for blood purification: The case of the Polyflux family. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(SUPPL. 7):10–20.
235. Hutchison CA, Harding S, Mead G, Goehl H, Storr M, Bradwell A, et al. Serum free-light chain removal by high cutoff hemodialysis: Optimizing removal and supportive care. *Artif Organs*. 2008 Dec;32(12):910–7.
236. Hakim RM, Fearon DT, Lazarus JM. Biocompatibility of dialysis membranes: Effects of chronic complement activation. *Kidney Int*. 1984 Aug 1;26(2):194–200.
237. Martín Malo A, De Francisco A. Dializadores y Membranas de Hemodiálisis. *Nefrol Al Día*. 2018;(Tabla 1).
238. Memoli B, Postiglione L, Cianciaruso B, Bisesti V, Cimmaruta C, Marzano L, et al. Role of different dialysis membranes in the release of interleukin-6- soluble receptor in uremic patients. *Kidney Int*. 2000;58(1):417–24.
239. Caglar K, Peng Y, Pupim LB, Flakoll PJ, Levenhagen D, Hakim RM, et al. Inflammatory signals associated with hemodialysis. *Kidney Int*. 2002 Oct;62(4):1408–16.
240. Kakuta T, Komaba H, Takagi N, Takahashi Y, Suzuki H, Hyodo T, et al. A Prospective Multicenter Randomized Controlled Study on Interleukin-6 Removal and Induction by a new Hemodialyzer With Improved Biocompatibility in Hemodialysis Patients: A Pilot Study. *Ther Apher Dial*. 2016 Dec 1;20(6):569–78.
241. Kaya Y, Ari E, Demir H, Soylemez N, Cebi A, Alp H, et al. Accelerated atherosclerosis in haemodialysis patients; Correlation of endothelial function with oxidative DNA damage. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(3):1164–9.
242. Pecoits-Filho R, Lindholm B, Axelsson J, Stenvinkel P. Update on interleukin-6 and its role in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(6):1042–5.
243. Villa G, Neri M, Bellomo R, Cerda J, De Gaudio AR, De Rosa S, et al. Nomenclature for renal replacement therapy and blood purification techniques in critically ill patients:

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Practical applications. Vol. 20, Critical Care. BioMed Central Ltd.; 2016.
244. Lee K, Jeong JH, Mun CH, Lee SR, Yoo KJ, Park YW, et al. Convection-enhanced high-flux hemodialysis. *Artif Organs*. 2007 Aug 1;31(8):653–8.
245. Honore PM, Hoste E, Molnár Z, Jacobs R, Joannes-Boyau O, Malbrain MLNG, et al. Cytokine removal in human septic shock: Where are we and where are we going? Vol. 9, *Annals of Intensive Care*. Springer Verlag; 2019.
246. Ronco C, Tetta C, Mariano F, Wratten M Lou, Bonello M, Bordoni V, et al. Interpreting the mechanisms of continuous renal replacement therapy in sepsis: The peak concentration hypothesis. Vol. 27, *Artificial Organs*. *Artif Organs*; 2003. p. 792–801.
247. Lukaszewicz AC, Payen D. Purification methods: A way to treat severe acute inflammation related to sepsis? Vol. 17, *Critical Care*. 2013. p. 159.
248. Peng ZY, Bishop J V., Wen XY, Elder MM, Zhou F, Chuasuwan A, et al. Modulation of chemokine gradients by apheresis redirects leukocyte trafficking to different compartments during sepsis, studies in a rat model. *Crit Care*. 2014 Jun 3;18(4).
249. Payen D, Mateo J, Cavaillon JM, Fraisse F, Floriot C, Vicaud E. Impact of continuous venovenous hemofiltration on organ failure during the early phase of severe sepsis: A randomized controlled trial. *Crit Care Med*. 2009;37(3):803–10.
250. Gaudry S, Hajage D, Schortgen F, Martin-Lefevre L, Pons B, Boulet E, et al. Initiation strategies for renal-replacement therapy in the intensive care unit. *N Engl J Med*. 2016 Jul 14;375(2):122–33.
251. Zarbock A, Kellum JA, Schmidt C, Van Aken H, Wempe C, Pavenstädt H, et al. Effect of early vs delayed initiation of renal replacement therapy on mortality in critically ill patients with acute kidney injury: The elain randomized clinical trial. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2016 May 24;315(20):2190–9.
252. Cruz DN, de Geus HR, Bagshaw SM. Biomarker strategies to predict need for renal replacement therapy in acute kidney injury. *Semin Dial*. 2011 Mar;24(2):124–31.
253. Barbar SD, Clere-Jehl R, Bourredjem A, Hernu R, Montini F, Bruyère R, et al. Timing of renal-replacement therapy in patients with acute kidney injury and sepsis. *N Engl J Med*. 2018 Oct 11;379(15):1431–42.
254. Lopes JA, Jorge S. The RIFLE and AKIN classifications for acute kidney injury: A critical and comprehensive review. *Clin Kidney J*. 2013;6(1):8–14.
255. Bagshaw SM, Wald R, Adhikari NKJ, Bellomo R. Timing of Initiation of Renal Replacement Therapy in Sepsis-Associated Acute Kidney Injury. *N Engl J Med*. 2020;383(3):240–51.
256. Vinsonneau C, Allain-Launay E, Blayau C, Darmon M, Ducheyron D, Gaillot T, et al. Renal replacement therapy in adult and pediatric intensive care: Recommendations by an expert panel from the French Intensive Care Society (SRLF) with the French Society of

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- Anesthesia Intensive Care (SFAR) French Group for Pediatric Intensive Care Emergen. Vol. 5, *Annals of Intensive Care*. Springer Verlag; 2015. p. 1–19.
257. Bellomo R, Cass A, Cole L, Finfer S, Gallagher M, Lo S, et al. Intensity of continuous renal-replacement therapy in critically ill patients. *N Engl J Med*. 2009 Oct 22;361(17):1627–38.
258. Palevsky PM, Zhang JH, O'Connor TZ, Chertow GM, Crowley ST, Choudhury D, et al. Intensity of renal support in critically ill patients with acute kidney injury. *N Engl J Med*. 2008 Jul 3;359(1):7–20.
259. Prowle JR, Schneider A, Bellomo R. Clinical review: Optimal dose of continuous renal replacement therapy in acute kidney injury. Vol. 15, *Critical Care*. BioMed Central; 2011. p. 207.
260. Joannes-Boyau O, Honoré PM, Perez P, Bagshaw SM, Grand H, Canivet JL, et al. High-volume versus standard-volume haemofiltration for septic shock patients with acute kidney injury (IVOIRE study): A multicentre randomized controlled trial. *Intensive Care Med*. 2013;39(9):1535–46.
261. Ostermann M, Bellomo R, Burdmann EA, Doi K, Endre ZH, Goldstein SL, et al. Controversies in acute kidney injury: conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Conference. *Kidney Int*. 2020;98(2):294–309.
262. multiFiltrate: manejo simple, más tiempo para sus pacientes - Fresenius Medical Care [Internet]. [cited 2020 Jul 31]. Available from: <https://www.freseniusmedicalcare.com.co/es-co/sector-salud/terapias-agudas/multifiltrate/>
263. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40(5):373–83.
264. Knaus WA, Draper EA, DP W, JE Z. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985;13(10):818–29.
265. Park YJ, Luger K. Histone chaperones in nucleosome eviction and histone exchange. Vol. 18, *Current Opinion in Structural Biology*. Howard Hughes Medical Institute; 2008. p. 282–9.
266. Solomkin JS, Mazuski JE, Bradley JS. Diagnosis and management of complicated intra-abdominal infection in adults and children: Guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Surg Infect (Larchmt)*. 2010;11(1):79–109.
267. Monard C, Rimmelé T, Ronco C. Extracorporeal blood purification therapies for sepsis. *Blood Purif*. 2019 Apr 1;47(Suppl3):2–15.
268. Villa G, Chelazzi C, Morettini E, Zamidei L, Valente S, Caldini AL, et al. Organ

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

- dysfunction during Continuous venovenous high cut-off hemodialysis in patients with septic acute kidney injury: A prospective observational study. *PLoS One*. 2017;12(2):1–13.
269. Blankestijn PJ, Grooteman MP, Nube MJ, Bots ML. Clinical evidence on haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant*. 2018 Oct 1;33:iii53–8.
270. Kade G, Literacki S, Rzeszutarska A, Niemczyk S, Lubas A. Removal of procalcitonin and selected cytokines during continuous veno-venous hemodialysis using high cutoff hemofilters in patients with sepsis and acute kidney injury. *Blood Purif*. 2018;46(2):153–9.
271. Meisner M, Hüttemann E, Lohs T, Kasakov L, Reinhart K. Plasma concentrations and clearance of procalcitonin during continuous veno-venous hemofiltration in septic patients. *Shock*. 2001;15(3):171–5.
272. Smith SE, Muir J, Kalabalik-Hoganson J. Procalcitonin in special patient populations: Guidance for antimicrobial therapy. *Am J Health Syst Pharm*. 2020;77(10):745–58.
273. Eichhorn T, Hartmann J, Harm S, Linsberger I, König F, Valicek G, et al. Clearance of Selected Plasma Cytokines with Continuous Veno-Venous Hemodialysis Using Ultraflux EMiC2 versus Ultraflux AV1000S. *Blood Purif*. 2017 Dec 1;44(4):260–6.
274. Demir NA, Sumer S, Celik G, Afsar RE, Demir LS, Ural O. How should procalcitonin and C-reactive protein levels be interpreted in haemodialysis patients? *Intern Med J*. 2018 Oct 1;48(10):1222–8.
275. Andrassy M, Volz HC, Igwe JC, Funke B, Eichberger SN, Kaya Z, et al. High-mobility group box-1 in ischemia-reperfusion injury of the heart. *Circulation*. 2008;117(25):3216–26.
276. Oda Y, Tsuruta R, Fujita M, Kaneda K, Kawamura Y, Izumi T, et al. Prediction of the neurological outcome with intrathecal high mobility group box 1 and S100B in cardiac arrest victims: A pilot study. *Resuscitation*. 2012 Aug 1;83(8):1006–12.
277. Van Zoelen MAD, Ishizaka A, Wolthuis EK, Choi G, Van Der Poll T, Schultz MJ. Pulmonary levels of high-mobility group box 1 during mechanical ventilation and ventilator-associated pneumonia. *Shock*. 2008 Apr;29(4):441–5.
278. Ogawa EN, Ishizaka A, Tasaka S, Koh H, Ueno H, Amaya F, et al. Contribution of high-mobility group box-1 to the development of ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Aug 15;174(4):400–7.

9 TABLAS SUPLEMENTARIAS

	PCT T0	IL-6 T0	HMGB1 T0	Nucleo- somas T0	Nucleo- somas T1pre	Nucleo- somas T1post
PCT T0 ng/ml		0,554** (0,002)				
IL-6 T0 pg/ml	0,554** (0,002)		0,579** (0,009)			
PCR T0 mg/l				-0,475* (0,014)	-0,536** (0,005)	-0,584** (0,002)
HMGB1 T0 mcg/ml		0,579** (0,009)			0,509* (0,044)	
Nucleosomas T0 mcg/ml					0,869** (0,000)	0,849** (0,000)
Nucleosomas T1pre mcg/ml			0,509* (0,044)	0,869** (0,000)		0,974** (0,000)

Tabla suplementaria 1. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores en T0, T1pre y T1post. Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T0, T1pre y T1post entre procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), proteína C reactiva (PCR), HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística, ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

	Sofa T2	PCT T2	PCR T2	HMGB1 T2	Nucleosomas T2
PCT T2 ng/ml	0,534** (0,004)			0,479* (0,038)	0,475* (0,019)
IL-6 T2 pg/ml			0,671** (0,0001)		

Tabla suplementaria 2. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores en T2. Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T2 entre la procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), proteína C reactiva (PCR), HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

	SOFA T0	PaO ₂ / FiO ₂ T0	Plaquetas T0	BT T0	Nora T0	Cr T0
PCT T0	0,0379* (0,043)				0,512** (0,005)	
IL-6 T0					0,507** (0,005)	
HMGB1 T0		-0,565* (0,012)			0,474* (0,040)	
Nucleosomas T0			0,849*** (0,0001)		0,406* (0,039)	
Nucleosomas T1pre		-0,432* (0,028)			0,414* (0,035)	-0,430* (0,028)
Nucleosomas T1post		-0,436* (0,026)	-0,411* (0,037)		0,469* (0,469)	-0,390* (0,049)
PaO ₂ /FiO ₂ T0						0,406* (0,029)
Plaquetas T0				-0,399* (0,032)		

Tabla suplementaria 3. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores y parámetros de disfunciones orgánicas en T0, T1pre y T1post. Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T0, T1pre y T1post entre la escala SOFA y los ítems de fracasos orgánicos (respiratorio mediante relación PaO₂/FiO₂; cardiovascular mediante dosis de noradrenalina (Nora T0)) con procalcitonina (PCT), interleukina-6 (IL-6), HMGB1 y nucleosomas. Nora: noradrenalina. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística *** correlación significativa en el nivel 0,001 (bilateral) ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

PROTEINAS NUCLEARES Y OTROS MEDIADORES DE INFLAMACIÓN EN PACIENTES EN SHOCK SÉPTICO SOMETIDOS A TERAPIAS CONTINUAS DE REMPLAZO RENAL

	SOFA T2	PaO ₂ /FiO ₂ T2	Plaquetas T2	BT T2	Nora T2	Cr T2
PCT T2	0,534** (0,004)	-0,395* (0,042)		0,404* (0,037)	0,423* (0,028)	
HMGB1 T2	0,488* (0,034)				0,479* (0,038)	
Nucleosomas T2	0,733*** (0,0001)		-0,631** (0,001)	0,463* (0,023)		
Plaquetas T2				-0,466* (0,14)		

Tabla suplementaria 4. Correlaciones no paramétricas mediante Rho de Spearman con significación bilateral de biomarcadores y parámetros de disfunciones orgánicas en T2. Resultados de las correlaciones obtenidas en el tiempo T2 entre la escala SOFA y los ítems de fracasos orgánicos (respiratorio mediante relación PaO₂/FiO₂; coagulación mediante cifra de plaquetas, hepático mediante bilirrubina total plasmática (BT), cardiovascular mediante dosis de noradrenalina (Nora) y renal mediante creatinina plasmática (Cr)) , con procalcitonina (PCT), HMGB1 y nucleosomas. Se representa el coeficiente de correlación y su significación estadística *** correlación significativa en el nivel 0,001 (bilateral) ** correlación significativa en el nivel 0,01 (bilateral) * correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).