

TESIS DOCTORAL

**ANÁLISIS PROTEÓMICO
NO DIRIGIDO EN PACIENTES
CON SHOCK SÉPTICO
Y FRACASO RENAL AGUDO
(PROTEOSEP)**



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

Presentada por

MARÍA JESÚS BROCH PORCAR

Dirigida por

Dr. Álvaro Castellanos Ortega

Dr. Manuel M. Sánchez del Pino

Programa de Doctorado en Medicina

Valencia, enero 2022



Facultad de Medicina y Odontología
Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

**ANÁLISIS PROTEÓMICO NO DIRIGIDO EN PACIENTES CON SHOCK SÉPTICO Y
FRACASO RENAL AGUDO (PROTEOSEP)**

Presentada por

MARÍA JESÚS BROCH PORCAR

Dirigida por:

Dr. Álvaro Castellanos Ortega

Dr. Manuel M. Sánchez del Pino

Valencia, 2022

D. Álvaro Castellanos Ortega. Doctor en Medicina y Cirugía, Profesor asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia. Especialista en Medicina Intensiva. Director del Área de Medicina Intensiva y jefe de Servicio de la Unidad de Medicina Intensiva del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia.

D. Manuel M. Sánchez del Pino. Doctor en Bioquímica y Biología Molecular. Profesor Titular del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Valencia. Asesor Científico del Servicio de Proteómica de la Universidad de Valencia.

CERTIFICAN: QUE Doña M^a Jesús Broch Porcar ha realizado bajo la dirección de los doctores Álvaro Castellanos Ortega y Manuel M. Sánchez del Pino el trabajo que presenta para optar al grado de Doctor con el título:

“ANÁLISIS PROTEÓMICO NO DIRIGIDO EN PACIENTES CON SHOCK SÉPTICO Y FRACASO RENAL AGUDO (PROTEOSEP)”

Estimado dicho trabajo damos nuestra conformidad para su presentación y defensa como tesis doctoral. Y para que así conste y obre a los efectos oportunos, firmamos la presente certificación, en Valencia, diciembre 2021.

Firmado,

Dr. Á. Castellanos Ortega

Dr. M.M. Sánchez del Pino

*“Casi todo lo que realice será insignificante,
pero es muy importante que lo haga”*

Mahatma Gandhi

**A la meua familia, Gerard, Júlia i Ismael
pel seu recolçament incondicional, per creure en mi i ser els
meus motivadors personals,
Vos estime**

Agradecimientos

Quiero empezar agradeciendo a todas las personas que han contribuido directa o indirectamente al desarrollo de esta tesis doctoral de distintas maneras.

En especial a mis directores, a Álvaro Castellanos, por animarme a que la iniciase, por haber creído en mi desde el principio, por su apoyo ilimitado, por enseñarme tanto y guiarme en mi desarrollo profesional; a Manuel Sánchez del Pino, por su inestimable ayuda, sus estupendas recomendaciones, valiosos comentarios y opiniones, por su supervisión, dedicación, sabiduría y paciencia. A ambos, gracias, sin vosotros no hubiese sido posible.

Quiero expresar mi gratitud a todo el equipo de la UCI del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, especialmente al personal de enfermería y residentes por su colaboración en la obtención de las muestras, a Paula Cantón y Silvia por su ayuda en la recogida de los datos clínicos de los pacientes. A Carlos Vicent, Paula Ramírez, Mónica, Tino, Isabel y Paqui, por ser excelentes compañeros y amigos, por su apoyo en los momentos de desánimo y soportar mis cambios de humor sin reproches, gracias de corazón.

A Armand y Mariano, por preparar las muestras en el MemProt Lab en la Universitat de València con tanto esmero. Al personal del Servicio de Proteómica y a Raquel del Servicio de Bioinformática del SCSIE por su profesionalidad en el análisis de las muestras, y a Bea por su ayuda y paciencia en la maquetación de esta tesis.

También quiero agradecer a todas los compañeros y compañeras de la UCI del Hospital Dr. Peset donde me formé y de la UCI del Hospital de Sagunto donde considero que me 'gradué', así como a las compañeras del Área de Simulación Clínica del Hospital La Fe, pues sin recoger y abrazar todas sus aportaciones, no sería la misma profesional ni la misma persona.

A nivel personal, quiero reconocer el apoyo recibido de todos mis amigos y amigas que lógicamente no puedo nombrar por problemas de espacio, en especial a Belén y José, por los buenos momentos que hemos pasado juntos, que

han servido para desconectar de mi vida profesional y recargar pilas, y si los sitios merecen gratitud, no puedo dejar de mencionar a Los escalones de la Lonja, entre otros lugares del Barrio del Carmen, por obsequiarme con tantos minutos de placer, risas, y buenos GinTónicos.

A mi familia, a mi madre, a mi padre que ya no está y a mi hermana, pues sin su apoyo, esfuerzo y trabajo, seguramente no estaría aquí y sobre todo por no dejar que abandonara en los momentos difíciles y de desánimo.

Como no puede ser de otra manera, quiero dar las gracias a mis hijos, Gerard y Júlia, por ser el mejor regalo que he recibido en la vida, por la felicidad que me generan cada día, por ser el motor de mi inspiración, y por entender que ha sido necesario sacrificar situaciones y momentos a su lado por esta profesión y para poder terminar este trabajo. Me siento orgullosa de ser vuestra madre. Y, por último, a mi marido, Ismael, por su paciencia, ayuda incondicional, por escucharme y respetarme, por haberme hecho comprender, entre otras muchas cosas, que no somos lo que conseguimos sino lo que superamos, pero, sobre todo, por quererme tanto, tanto y tanto...

A tod@s,

Mil gracias

ÍNDICE

Listado de Tablas	17
Listado de Figuras	19
Listado de Abreviaturas	21
Resumen	25
1 Introducción	29
1.1 Definición de sepsis y shock séptico	31
1.2 Epidemiología	31
1.3 Fisiopatología de la sepsis.....	34
1.3.1 A nivel molecular y celular.....	34
1.3.2 A nivel orgánico y tisular.....	42
1.4 Lesión renal aguda asociada a la sepsis	45
1.4.1 Fisiopatología de la s-LRA	46
1.4.2 Estrategias terapéuticas de la s-LRA	51
1.4.3 Técnicas continuas de depuración extrarrenal	52
1.5 Proteómica	58
2 Hipótesis y objetivos	65
2.1 Hipótesis del estudio	67
2.2 Objetivos.....	67
2.2.1 Objetivo General.....	67
2.2.2 Objetivos Específicos	67
3 Métodos	69
3.1 Requisitos deontológicos.....	70
3.2 Diseño del estudio	71
3.3 Pacientes.....	71
3.3.1 Criterios de Inclusión	71
3.3.2 Criterios de Exclusión.....	71
3.3.3 Periodo de observación	72
3.3.4 Criterios diagnósticos de la patología de estudio	72
3.3.5 Técnicas Continuas de Depuración Extrarrenal	73
3.3.6 Variables recogidas.....	74
3.4 Muestras a estudio	77
3.4.1 Muestras de Sangre	77
3.4.2 Muestras de Efluente	78
3.5 Técnicas proteómicas	79
3.5.1 Preparación de las muestras.....	79
3.5.2 Análisis por espectrometría de masas (LC-MS/MS).....	82
3.5.3 Análisis de datos de espectrometría de masas.....	83
3.5.4 Análisis de datos	84
3.6 Análisis estadístico.....	86

4 Resultados	91
4.1 Análisis descriptivo de los pacientes	93
4.1.1 Variables demográficas, clínicas y evolutivas.....	93
4.1.2 Variables analíticas.....	99
4.2 Análisis proteómico: identificación de las proteínas en las muestras plasmáticas y las muestras del ultrafiltrado.....	111
4.2.1 Descripción general de las proteínas identificadas y cuantificadas	111
4.2.2 Análisis diferencial de los perfiles proteicos plasmáticos de los grupos TCDE y NoTCDE.....	112
4.2.2.1 Análisis estadístico no supervisado	112
4.2.2.2 Regresión binomial con penalización Lasso y Elastic Net.	114
4.2.2.3 Análisis discriminante PLS-DA.....	123
4.2.3 Análisis diferencial de las proteínas con respecto a la mortalidad	127
4.2.4 Análisis diferencial de las proteínas con respecto a la sobreinfección nosocomial.....	131
4.2.5 Análisis funcional de las proteínas diferenciales	134
4.2.5.1 Proteínas diferenciales entre los grupos NoTCDE y TCDE.....	134
4.2.6 Correlación entre las proteínas cuantificadas con variables clínicas, analíticas, escalas de gravedad e índices pronósticos.	138
 5 Discusión.....	 145
6 Conclusiones	177
7 Referencias	181
Anexos	199
Anexo I.....	201
Anexo II.....	203
Anexo III.....	204
Anexo IV.....	205
Anexo V.....	207

Listado de Tablas

- Tabla 1. Escala de Evaluación de la disfunción orgánica secuencial (SOFA). Adaptada de Vincent JL y col. (2)
- Tabla 2. Etapas de la lesión renal aguda. Adaptada de Khwaja (101)
- Tabla 3. Variables demográficas de los pacientes estudiados.
- Tabla 4. Características evolutivas y de gravedad de los pacientes agrupados por la necesidad de uso de Terapia Continua de Depuración Extrarrenal (TCDE).
- Tabla 5. Datos analíticos en distintos momentos evolutivos.
- Tabla 6. Características del Grupo TCDE
- Tabla 7. Evolución de las poblaciones linfocitarias
- Tabla 8. Características principales de las proteínas clasificadoras en el Elastic Net y Lasso, Grupo TCDE y NoTCDE
- Tabla 9. Proteínas seleccionadas en los Componentes principales 1 y 2, TCDE y NoTCDE.
- Tabla 10. Características de las Proteínas seleccionadas relacionadas con la mortalidad
- Tabla 11. Características de las proteínas seleccionadas en los pacientes con sobreinfección nosocomial.
- Tabla 12. Proteínas seleccionadas en el análisis de regresión lineal múltiple y su contribución en los índices pronósticos y escala de gravedad
- Tabla 13. Análisis de regresión lineal múltiple de parámetros inflamatorios de interés.

Listado de Figuras

- Figura 1. Receptores involucrados en la interacción entre el sistema inmune innato y adquirido
- Figura 2. Principales pilares de la Respuesta inflamatoria sistémica.
- Figura 3. Procesos fisiopatológicos reforzados en la sepsis.
- Figura 4. Respuesta inmune en la Sepsis.
- Figura 5. Fallos orgánicos en un paciente con shock séptico.
- Figura 6. Alteraciones microcirculatorias e inflamatorias en las células tubulares renales.
- Figura 7. Mecanismos Fisiopatológicos propuestos en la s-LRA.
- Figura 8. Componentes del circuito de la TCDE.
- Figura 9. Modalidades de Terapias Continuas de Depuración Extrarrenal.
- Figura 10. Esquema de las ciencias ómicas que pueden contribuir a los estudios biológicos.
- Figura 11. Procesamiento de las muestras de sangre.
- Figura 12. Procesamiento de las muestras de ultrafiltrado.
- Figura 13. Tiempos de extracción de muestras.
- Figura 14. Gel de electroforesis.
- Figura 15. Evolución de la escala SOFA y SOFA_NR en los primeros 10 días de evolución.
- Figura 16. Valores medios y máximos de la escala SOFA y SOFA_NR en los grupos NoTCDE y TCDE.
- Figura 17. Evolución de los Delta SOFA analizados.
- Figura 18. Evolución de los Leucocitos por tiempos y grupos.
- Figura 19. Evolución de los Linfocitos por tiempos y grupos.
- Figura 20. Evolución de los Neutrófilos por tiempos y grupos.
- Figura 21. Evolución del Cociente Neutrófilos/Linfocitos (NLR) por tiempos y grupos.
- Figura 22. Evolución de la PCR por tiempos y grupos.
- Figura 23. Evolución de la Vitamina D por tiempos y grupos.
- Figura 24. Evolución de la Hemoglobina por tiempos y grupos.
- Figura 25. Evolución del Láctico por tiempos y grupos.
- Figura 26. Evolución del Sodio por tiempos y grupos.
- Figura 27. Evolución del Potasio por tiempos y grupos.

- Figura 28. Evolución del Cloro por tiempos y grupos.
- Figura 29. Evolución del Fósforo por tiempos y grupos.
- Figura 30. Evolución el Magnesio por tiempos y grupos.
- Figura 31. Evolución del Cai por tiempos y grupos.
- Figura 32. Proteínas identificadas en las muestras analizadas.
- Figura 33. Proteínas cuantificadas en las muestras analizadas.
- Figura 34. Mapa de calor de las 229 proteínas al ingreso.
- Figura 35. PCA de todas las muestras al ingreso.
- Figura 36. Curva ROC obtenida con las 2 proteínas seleccionadas en el análisis Lasso.
- Figura 37. Mapa de Calor de las proteínas identificadas en Lasso al ingreso.
- Figura 38. Mapa de Calor de las 2 proteínas Elastic Net al ingreso
- Figura 39. Curva ROC de las 22 proteínas detectadas al ingreso con Elastic Net.
- Figura 40. Diferencias entre las 22 proteínas clasificadoras de los grupos TCDE y NoTCDE.
- Figura 41. PLS-DA de todas las muestras al ingreso.
- Figura 42. sPLS-DA de todas las muestras al ingreso.
- Figura 43. Mapa de Calor de las proteínas seleccionadas en el s-PLS-DA.
- Figura 44. Curva ROC para el s-PLS-DA.
- Figura 45. Abundancias de las Proteínas seleccionadas que explicarían la mortalidad.
- Figura 46. Mapa de Calor de los clústeres mortalidad.
- Figura 47. Curva ROC mortalidad.
- Figura 48. Abundancia de las Proteínas seleccionadas que explicarían la sobreinfección nosocomial.
- Figura 49. Mapa de Calor de los clústeres Sobreinfección Nosocomial.
- Figura 50. Curva ROC Sobreinfección Nosocomial.
- Figura 51. Análisis diferencial de las proteínas identificadas y cuantificadas en los grupos TCDE y NoTCDE por Lasso, Elastic Net, PLS-DA1 y PLS-DA2.
- Figura 52. Anotación funcional por PANTHER.
- Figura 53. Análisis de los términos funcionales más enriquecidos en las proteínas diferenciales.
- Figura 54. Relación funcional de las proteínas diferenciales obtenidas con STRING.
- Figura 55. Análisis de regresión lineal múltiple de los índices pronósticos y escala de gravedad.
- Figura 56. Análisis de regresión lineal múltiple de parámetros inflamatorios de interés.

Listado de Abreviaturas

ACN	Acetonitrilo
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADQI	<i>Acute Dialysis Quality Initiative</i>
AF	Ácido Fórmico
APACHE II	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i>
ARN	Ácido ribonucleico
BA	Bicarbonato amónico
Ca_i²⁺	Calcio iónico
CID	Coagulopatía intravascular diseminada
Cr	Creatinina
DAMP	Patrones moleculares asociados a daño tisular
d	día
Da	Daltons
DP	Diálisis peritoneal
DDA	Adquisición dependiente de datos
DDE	Diálisis diaria extendida
DDT	Ditiotreitol
DIA	Adquisición independiente de datos
ECMO	Oxigenador de membrana extracorpórea
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EM	Espectrómetro de masas
FC	Frecuencia cardíaca
FDR	<i>False Discovery rate</i>
FiO₂	Fracción inspiratoria de oxígeno
FR	Frecuencia respiratoria
h	hora
HDFVVC	Hemodiafiltración veno-venosa continua
HDI	Hemodiálisis intermitente

HDVVC	Hemodiálisis veno-venosa continua
HFVVC	Hemofiltración veno-venosa continua
HLA	Antígeno leucocitario humano
HMGB1	Proteína de alta movilidad B1
HSP	Proteína chaperona de golpe de calor
HTA	Hipertensión arterial
IECAS	Inhibidor enzima convertidor de la angiotensina
IFN-γ	Interferón gamma
Ig	Inmunoglobulinas
IGFBP7	Factor de crecimiento similar a la insulina 7
IL	Interleucina
iNOS	Oxido Nítrico Sintasa inducible
IMC	Índice de masa corporal
KDIGO	<i>Kidney Disease Improving Global Outcomes</i>
lpm	Latidos por minutos
LRA	Lesión Renal Aguda
LC-MS/MS	Cromatografía líquida/Espectrometría de masas en tándem
MBL	Lectina de unión a manosa
mEq	Miliequivalentes
m-HLA-DR	Antígeno HLA-DR en la superficie de los monocitos
mmHg	Milímetros de mercurio
m/z	Relación masa/carga
NETs	Trampas extracelulares de los neutrófilos
NK	Células <i>Natural Killer</i>
PAM	Presión arterial media
PAMP	Patrón molecular asociado a patógeno
PaO₂	Presión arterial de oxígeno
PC	<i>Principal component</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PCR	Proteína C reactiva
PCT	Procalcitonina
PLS	<i>partial least squares</i>

PLS-DA	<i>sparse partial least squares-discriminant analysis</i>
PM	Peso molecular
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Respiraciones por minuto- revoluciones por minuto
RRP	Receptores reconocedores de patógenos
SAPS III	<i>Simplified Acute Physiology Score</i>
SDMO	Síndrome de Disfunción Multiorgánica
SDRA	Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo
SDS/PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico
SIRS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
SLED	Diálisis lenta de baja eficiencia
s-LRA	Lesión renal aguda por sepsis
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment Score</i>
SWATH	<i>Sequential Windowed Acquisition of All Theoretical Fragment Ions</i>
T^a	Temperatura
TCA	Tricloroacético
TCDE	Técnicas Continuas de Depuración extrarrenal
TIMP-2	Inhibidor tisular de la metaloproteinasa-2
TFA	Ácido trifluoroacético
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
TRL	Receptores tipo Toll
TRR	Terapias de reemplazo renal
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
UF	ultrafiltrado
Vit D	Vitamina D
VMI	Ventilación Mecánica Invasiva
VNI	Ventilación No Invasiva

Resumen

Introducción

La sepsis es una de las patologías más frecuentes y la primera causa de muerte en las Unidades de Cuidados Intensivos, siendo el shock séptico su forma más grave de presentación. En la actualidad la sepsis constituye un problema de salud importante por su elevada mortalidad empeorando el pronóstico cuando asocia una lesión renal aguda. El diagnóstico precoz y la aplicación inmediata de un tratamiento adecuado han demostrado ser esenciales para frenar el fallo multiorgánico y reducir la mortalidad. Aunque se ha avanzado en el conocimiento de la fisiopatología de la sepsis, la identificación de biomarcadores para guiar terapias farmacológicas eficaces sigue siendo un desafío, debido fundamentalmente a que se trata de un síndrome clínicamente muy heterogéneo en el que intervienen múltiples mediadores moleculares. La sepsis con lesión renal aguda asociada conforma un grupo de pacientes relativamente homogéneo en cuanto al pronóstico. La presencia de sepsis y lesión renal aguda se asocia a mayores costos, estancias hospitalarias más prolongadas y peores resultados clínicos. Este grupo necesita habitualmente terapias específicas de soporte vital que incluyen técnicas continuas de depuración extrarrenal (TCDE) no exentas de riesgos para el paciente, siendo un aspecto importante la elección del momento óptimo para el comienzo de las mismas. Los biomarcadores actuales de uso común (creatinina sérica y diuresis) no son sensibles ni específicos para indicar la necesidad de iniciar las mismas, siendo necesario descubrir nuevos biomarcadores que mejoren a los actuales y en este sentido el papel de la proteómica parece prometedor.

La hipótesis del presente estudio es que el conocimiento detallado cuantitativo y cualitativo de las proteínas plasmáticas y de las proteínas eliminadas en el

ultrafiltrado durante la terapia continua de depuración extrarenal, obtenidas simultáneamente y analizadas mediante técnicas de proteómica no dirigida basadas en SWATH (*Sequential window acquisition of all theoretical fragment ion spectral*) en pacientes con sepsis o shock séptico con lesión renal aguda asociada permitirá identificar paneles de proteínas que potencialmente servirán como biomarcadores pronósticos que ayudarán a decidir el momento idóneo de inicio de estas terapias, además de permitir profundizar en el conocimiento de los procesos biológicos en los que participan.

Métodos

Se realizó un estudio prospectivo, observacional, unicéntrico, de una cohorte de pacientes con sepsis y/o shock séptico y lesión renal aguda asociada que ingresaron consecutivamente en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital La Fe de Valencia. Se recogieron datos demográficos, clínicos, bioquímicos, puntuaciones de la escala de gravedad SOFA e índices pronósticos, SAPS II y APACHE 3, así como, las muestras objeto de estudio, plasmáticas y de ultrafiltrado al ingreso, 24 y 72 h, que se procesaron y analizaron en el Servicio de Proteómica de la Universidad de Valencia. Se aplicaron métodos de regresión con penalización y de reducción de dimensión a las proteínas cuantificadas y análisis bioinformáticos para conocer sus funciones.

Resultados

Se estudiaron 18 pacientes con lesión renal aguda asociada a sepsis, con una edad media de 63,9 años siendo el 77,8 % varones. Se clasificaron en dos grupos: grupo No TCDE, con 10 pacientes que no precisaron técnicas continuas de depuración extrarrenal y grupo TCDE con 8 pacientes que si las necesitaron. Las únicas diferencias significativas detectadas entre ambos grupos fueron el porcentaje de pacientes sometidos a ventilación mecánica invasiva, la estancia en la unidad de cuidados intensivos, y las puntuaciones en las escalas de

gravedad al ingreso que fueron superiores en el grupo TCDE. Se identificaron y cuantificaron 593 y 463 proteínas respectivamente en las 70 muestras analizadas, detectando un panel de 16 proteínas que clasificó a los pacientes en los grupos TCDE y NO TCDE. También se identifican dos paneles de 8 y 10 proteínas que se asociaron con un riesgo elevado de adquirir una infección nosocomial y con la supervivencia respectivamente. Se observó una elevada correlación entre determinadas proteínas y marcadores de inflamación, siendo la Apolipoproteína C2 la única que se correlacionó negativamente con el SOFA, APACHE II y SAPS 3, y dos proteínas, la alfa-1-Glicoproteína y la Haptoglobina que podrían ser moléculas dianas para tratar a este grupo de pacientes con sepsis y lesión renal aguda asociada.

Conclusiones

Mediante técnicas de proteómica no dirigida se identificaron en muestras biológicas de pacientes con sepsis y lesión renal aguda, paneles de proteínas que se asociaron con la necesidad de iniciar TCDE, el desarrollo de infección nosocomial y la supervivencia. Si se confirman estos hallazgos, estas proteínas podrían utilizarse como biomarcadores mejorando la precisión en aspectos diagnósticos, terapéuticos y pronósticos, mejorando la práctica clínica habitual, y la seguridad de los pacientes.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 DEFINICIÓN DE SEPSIS Y SHOCK SÉPTICO

La sepsis es una de las patologías más frecuentes y la principal causa de muerte en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI). En 2016 se realizó el tercer consenso internacional (Sepsis-3) sobre las definiciones de sepsis y shock séptico, entendiendo la sepsis como un síndrome complejo de alteraciones clínicas, fisiológicas y bioquímicas secundarias a la respuesta inmunológica desregulada del organismo frente a una infección que puede producir disfunción orgánica [1] descrita como un aumento en la escala SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*)[2] y el shock séptico, como la sepsis con alteraciones profundas en el metabolismo celular (lactato plasmático > 2 mmol/L) y circulatorias (presión arterial media (PAM) \leq 65 mmHg), siendo el estadio más avanzado de la sepsis con un incremento importante de la mortalidad.

1.2 EPIDEMIOLOGÍA

La sepsis y el shock séptico, representan una causa importante de morbilidad y mortalidad a nivel mundial y constituyen una carga substancial para el sistema sanitario tanto desde el punto de vista clínico como económico, siendo un problema grave de salud pública. Además, reduce la calidad de vida de aquellos que sobreviven y los superan.

Disponemos de poca información sobre las características epidemiológicas de esta entidad a nivel europeo. La prevalencia de la sepsis en las UCI europeas oscila entre el 8 y el 30 %. Esta diferencia se debe a factores como: la heterogeneidad entre las UCI, la definición de sepsis utilizada e incluso del país. Así, la sepsis grave en las UCI de Suiza y Portugal se aproxima al 10 y 64 % respectivamente [3]. En nuestro país, el estudio realizado por Bouza y col. sobre la epidemiología y la tendencia de la sepsis grave durante 6 años (2006-2011), reporta que el 1,1 % de todas las hospitalizaciones son por sepsis grave y el 54 % por sepsis, con una incidencia anual de 87 casos por 100.000 habitantes y en UCI de 44 casos por 100.000 habitantes/año, similar a la publicada en países desarrollados (50-100 casos por 100.000 habitantes). Más de la mitad de estos pacientes (57 %) desarrollaron un fallo orgánico, el 26 % dos y el 20 % tres o más, con una mortalidad hospitalaria del 43 %. La incidencia experimentó un

incremento entre el año 2006 y 2011 del 8,6 % y la mortalidad del 6 %, lo que supone un descenso del 3,2 % en la tasa de letalidad estandarizada [4].

Un 25 % de los pacientes con sepsis desarrollan la forma más grave [5], el shock séptico, que representa el 15 % de todas las admisiones en UCI asociándose con una mortalidad entre el 30 y el 50 % [3,6,7].

La prevalencia de la sepsis desde hace dos décadas se mantiene estable, no así la mortalidad, que ha ido disminuyendo a lo largo de los años gracias a una iniciativa global secundada por varias sociedades científicas. La Campaña Sobrevivir a la Sepsis se lanzó en el año 2002 con el objetivo de reducir un 25 % la mortalidad en 5 años, tras implementar un paquete de medidas basadas en el reconocimiento precoz de la sepsis, la instauración precoz de antibióticos de amplio espectro, en mejorar el aporte de oxígeno a los tejidos con un protocolo de resucitación con fluidos guiado por objetivos y la instauración del soporte orgánico en UCI. Además, promovió una campaña educativa dirigida a los profesionales de la salud para mejorar el diagnóstico de la sepsis e instaurar el tratamiento adecuado, creando conciencia sobre la sepsis. Esta campaña ha ido actualizándose a lo largo de los años, publicándose la última actualización en el año 2018 revisión (8–12).

La mortalidad del shock séptico en las UCI de nuestro país en el año 2002 era del 48,2 % [13] y tras implementar las recomendaciones de la Campaña Sobrevivir a la Sepsis comenzó a disminuir presentando una reducción absoluta del 17,6 % entre el año 2002 y 2011 [14]. A pesar de ello, continúa siendo elevada (27,2-33 %) [15,16]. Recientemente se ha publicado una revisión sistemática sobre la mortalidad de la sepsis y shock séptico en diferentes continentes, siendo la mortalidad media a los 30 días en Europa de 24,30 % en la sepsis y del 32,49 % en el shock séptico [17]

La intensidad de la sepsis viene determinada por varios componentes como la virulencia del patógeno, el tamaño del inóculo, el foco de entrada, la edad, las comorbilidades del paciente y el polimorfismo genético entre otros. Todos estos factores interactúan y pueden generar una amplia gama de manifestaciones de gravedad creciente que conocíamos hasta el año 2016 como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), sepsis, sepsis grave, shock séptico y

síndrome de la disfunción múltiple de órganos (SDMO) [18–20]. En 2016, se publicó el tercer consenso internacional sobre las definiciones de Sepsis y Shock séptico[1], desapareciendo el concepto de SIRS y de sepsis grave. El primero, al considerar que los criterios de SIRS (taquicardia, taquipnea, fiebre o hipotermia y leucocitosis o leucopenia) no son específicos de infección y el segundo, por considerarlo superfluo. Definen la sepsis como la disfunción orgánica que puede comprometer la vida causada por una respuesta inmune desregulada a una infección, y en este contexto, incluso un grado moderado de disfunción orgánica se asocia con una mortalidad del 10 % y definen el shock séptico como la sepsis con alteraciones profundas en el metabolismo celular (lactato plasmático > 2mmol/L) y circulatorio (PAM \leq 65mmHg) que incrementan substancialmente la mortalidad. Identifican la disfunción orgánica como un cambio agudo en la puntuación total secuencial relacionada con la sepsis en la escala de evaluación de la insuficiencia orgánica o SOFA \geq 2 puntos. El sistema de puntuación SOFA es el más utilizado en la actualidad para describir la disfunción y el fallo de órganos en pacientes sépticos desde que se introdujo por primera vez en 1996 [2]. Una puntuación más alta para cada órgano y la afectación de más sistemas orgánicos se asocian con una mayor probabilidad de mortalidad [3,21]. Involucra 6 sistemas orgánicos (respiratorio, neurológico, cardiovascular, hematológico, renal y hepático) y en función de la gravedad de la disfunción se asigna un valor (desde 0 si es normal hasta 4 si la disfunción es máxima) para cada órgano en base a determinados umbrales de datos analíticos o datos clínicos como la relación PaO₂/FiO₂, la creatinina, las plaquetas, la bilirrubina, el valor de la PAM con o sin fármacos vasopresores y la puntuación total en la escala de *Glasgow* que evaluará la disfunción neurológica (Tabla 1)

Tabla 1. Escala de Evaluación de la disfunción orgánica secuencial (SOFA).
Adaptada de Vincent JL y col. (2)

Variables	Puntuación SOFA				
	0	1	2	3	4
Respiratorio	PaO ₂ /FiO ₂ > 400 SpO ₂ /FiO ₂ > 302	PaO ₂ /FiO ₂ < 400 SpO ₂ /FiO ₂ < 302	PaO ₂ /FiO ₂ < 300 SpO ₂ /FiO ₂ < 221	PaO ₂ /FiO ₂ < 200 SpO ₂ /FiO ₂ < 142	PaO ₂ /FiO ₂ < 100 SpO ₂ /FiO ₂ < 67
Cardiovascular (dosis en µg/Kg/min)	PAM ≥ 70mmHg	PAM ≥ 70mmHg	Dopamina ≤ 5 o Dobutamina	Dopamina > 5 o Noradrenalina ≤ 0,1 o Fenilefrina ≤ 0,8	Dopamina > 15 o Noradrenalina > 0,1 o Fenilefrina > 0,8
Hígado (Bilirrubina en mg/dL)	< 1,2	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	>12
Riñón (Creatinina en mg/dL)	< 1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9	>5,0
Coagulación (Plaquetas x 10 ³ /mm ³)	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Neurológico (escala Glasgow)	15	13-14	10-12	6-9	<6

dL: decilitos; FiO₂: Fracción inspiratoria de oxígeno; kg: kilogramos; µg: microgramos; mg: miligramos; min: minuto; mm³: milímetros cúbicos; mmHg: milímetros de mercurio; PaO₂: presión arterial de oxígeno; SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*); SpO₂: Saturación por pulsioximetría de oxígeno.

1.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA SEPSIS

La fisiopatología de la sepsis es compleja y dinámica. En los últimos años se han realizado avances importantes en este campo y en este sentido se conoce mejor cómo la sepsis puede dañar a distintos niveles: molecular, celular, tisular y orgánico.

1.3.1 A nivel molecular y celular

La respuesta inmune a un patógeno se basa en una compleja red que involucra al sistema inmune innato y adquirido, con funciones claramente diferenciadas, pero estrechamente interconectadas [22]. La primera línea defensiva del organismo la constituye las barreras físicas como la piel, las mucosas y las membranas del tracto gastrointestinal, respiratorio y genitourinario. La segunda

línea la establece el sistema inmune innato que actuará rápidamente y que además jugará un papel activador y controlador del sistema inmune adquirido formando la tercera línea defensiva. Ante la presencia de un patógeno, las células de la inmunidad innata (macrófagos, monocitos, granulocitos, células dendríticas y células *natural Killer* (NK) se activan, a través de los receptores reconocedores de patógenos (RRP). Estos reconocen un patrón molecular común y constante de la superficie de los microorganismos, denominado patrón molecular asociado a patógenos (PAMP) que incluye componentes de patógenos bacterianos, fúngicos y víricos. Los RRP son proteínas bien de la superficie celular entre las que se hallan proteínas del sistema de complemento como la lectina de unión a manosa (MBL) expresadas en células dendríticas y mieloides capaz de activar el complemento, receptores endocíticos como los receptores de la manosa y los receptores de membrana, como los receptores “tipo Toll” (TRL) y CD14, expresados fundamentalmente en las superficies de las células que primero entran en contacto con el patógeno durante la infección (células de la superficie epitelial) y en las células presentadoras de antígenos (monocitos/macrófagos y células dendríticas) bien del citosol como receptores tipo NOD y RIG-I [23] (Figura 1). Existen al menos 10 tipos diferentes de receptores TRL [24]. Entre los principales PAMP, que actúan como activadores del sistema inmunitario innato, se encuentran los lipopolisacáridos (en microorganismos gramnegativos), el ácido lipoteicoico y los peptidoglicanos (en grampositivos), el zymosán, mananos y glucanos (en levaduras), secuencias de ADN bacteriano con dominios CpG no metilados y ARN de doble cadena (en virus)[25]. Al unirse los PAMP a los RRP se inicia una cascada de señalización intracelular y comienza una serie de procesos secuenciales en el sistema inmune innato, en el endotelio, en el sistema neuroendocrino, en el sistema del complemento, en el de la coagulación y en el de fibrinólisis. Todos estos pasos funcionan como redes interconectadas y superpuestas, asemejándose al proceso de comunicación [24]. Cuando el RRP se une al PAMP se inicia la transcripción de interferón tipo I [23] y citocinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) que perpetuará su producción, la de otras citocinas y ayudará en la generación de mediadores anti-inflamatorios. Entre los mediadores pro-inflamatorios importantes tenemos las interleucinas (IL) pro-

inflamatorias como la IL-1 β endotelina, IL-6 moléculas de adhesión, IL-8 quimioquinas, IL-11 elastasa, IL-12 factores de crecimiento, IL-18 LTs, IL-23 NO, Interferon gamma (IFN γ) y otras moléculas efectoras como especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Entre los mediadores anti-inflamatorios se encuentran las IL anti-inflamatorias como la IL-1RA, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, IL-16, IL-18RA y el NO [26] (Figura 2).

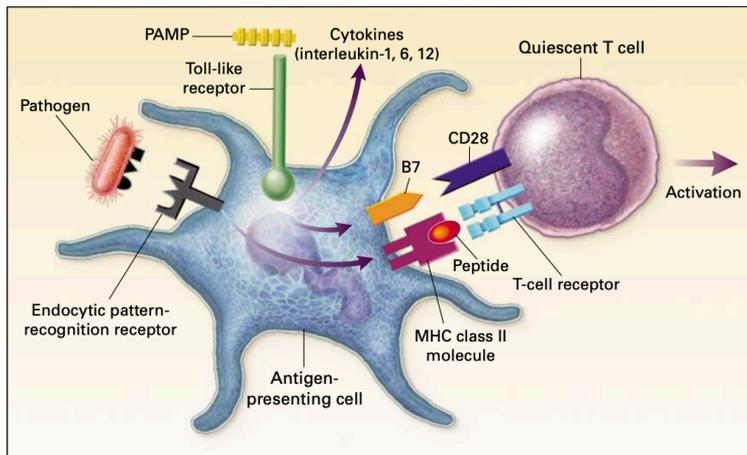


Figura 1. Receptores involucrados en la interacción entre el sistema inmune innato y adquirido. Imagen adquirida de Medzhitov y col (25)

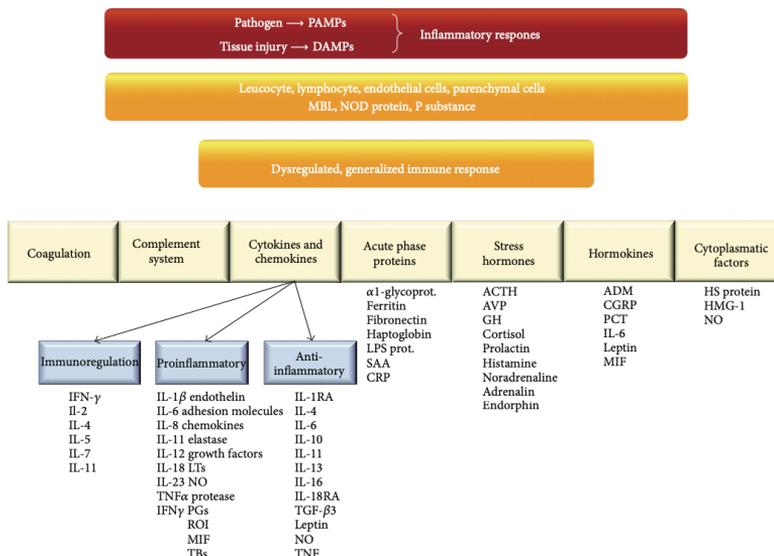


Figura 2. Principales pilares de la respuesta inflamatoria sistémica. Adquirida de Laszlo y col. (26)

El sistema inmune innato intenta contener la infección hasta que las células del sistema inmune adquirido (linfocitos) se hacen efectoras. Los linfocitos T serán responsables de la producción de citocinas y los B de la producción de anticuerpos. Estas células para activarse, requieren que algunas células del sistema inmune innato les presenten al antígeno. Al unirse las células B y T a través de sus receptores al antígeno, se producirá una proliferación clonal, activándose y proliferando, lo cual es necesario para una respuesta inmune eficiente. Esto tarda de 3 a 5 días lo que provocará que muchos patógenos dañen al huésped.

Es necesaria una respuesta inflamatoria robusta para poder sobrevivir a los diferentes insultos. Además, la inflamación inducida por los patógenos, conduce a la liberación de células epiteliales y endoteliales que actuarán como mensajeros moleculares del daño tisular, llamados patrones moleculares asociados a daño tisular (DAMP). Al producirse la lesión tisular se liberan DAMP que se unirán a RRP expresados en la superficie de las células inmunes o intracelularmente. Los DAMP estimularán células inflamatorias cercanas que producirán más mediadores inflamatorios clásicos y más DAMP, perpetuándose la inflamación. En la sepsis un DAMP clave es el grupo de proteínas de alta movilidad B1 (HMGB1), que es una proteína nuclear. Otros DAMP reconocidos son la proteína S100, proteínas chaperonas de choque térmico (HSP), ácidos nucleicos y ácido hialurónico (24).

Algunos de los RRP, principalmente los receptores tipo NOD, pueden ensamblarse en complejos moleculares denominados inflamasomas, importantes en la maduración y secreción de las potentes IL-1 β e IL-18, que pueden desencadenar una muerte celular programada altamente inflamatoria por ruptura rápida mediada por caspasas de la membrana plasmática denominada piroptosis [23].

Las citocinas pro-inflamatorias [23] a su vez:

- Activarán las células inmunitarias innatas, aumentando su número y su vida útil.
- Aumentarán la expresión de moléculas de adhesión y quimiocinas por parte de las células endoteliales.

- Fomentarán la síntesis de muchas proteínas hepáticas de fase aguda como el complemento y el fibrinógeno.
- Inducirán las trampas extracelulares de los neutrófilos (NETS), redes de cromatina decorada con proteínas granulares e histonas y enzimas antimicrobianas que atraparán a los microorganismos supervivientes. Algunos autores lo consideran como una consecuencia de un nuevo proceso de muerte celular denominada netosis que culminará en la liberación de estas redes de ADN con capacidad para atrapar microorganismos.
- Provocarán la liberación desde las plaquetas activadas, células endoteliales y leucocitos de vesículas que contienen lípidos y proteínas inflamatorias, elementos prooxidantes y procoagulantes.
- Regularán al alza la expresión del factor tisular por los monocitos sanguíneos. En combinación con el lanzamiento de los NETS y las vesículas mencionadas anteriormente, la expresión del factor tisular intravascular generará una "inmunotrombosis" mediante la cual los microbios quedan atrapados dentro de los trombos que, a su vez, atraerán y activarán aún más a los leucocitos [27].

La respuesta inflamatoria de las citocinas logra un control rápido de las infecciones menores y localizadas. Sin embargo, cuando la respuesta supera un cierto umbral, se produce una lesión sistémica por las especies reactivas de oxígeno (ROS), que pueden dañar las proteínas celulares, los lípidos, el ADN y afectar la función mitocondrial, por la activación del complemento especialmente C5a, que generará más ROS, aumentará la permeabilidad endotelial y la expresión del factor tisular, causando la muerte de las células de la médula adrenal y extendiendo la inmunotrombosis que puede resultar en coagulación intravascular diseminada (CID) y mayor lesión orgánica (Figura 3)

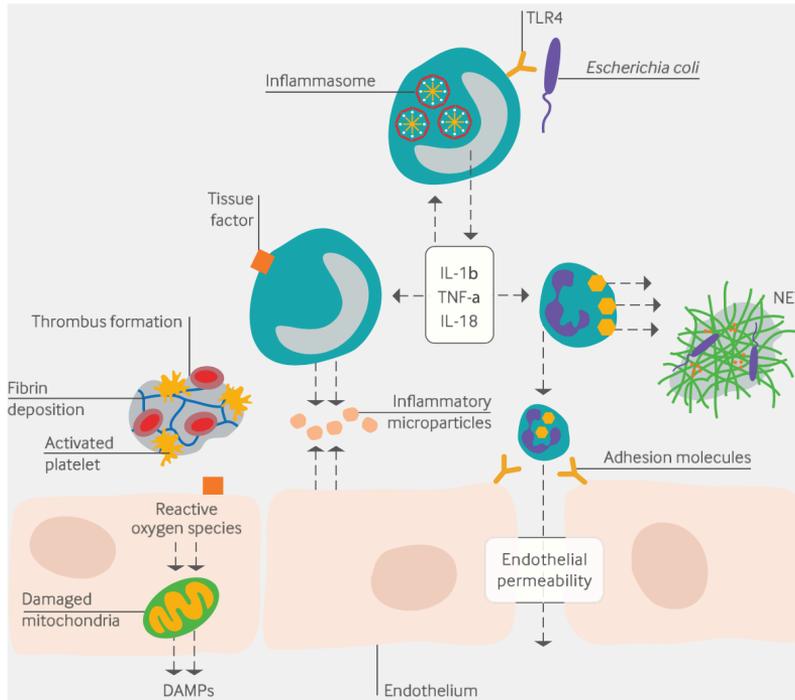


Figura 3. Procesos fisiopatológicos reforzados en la sepsis.

La lesión endotelial resulta en activación de monocitos y granulocitos, rotura de la barrera endotelial, inmunotrombosis y coagulación intravascular diseminada.
Adquirida de Gotts y col (23)

El organismo, a través de las citocinas anti-inflamatorias intentará luchar y controlar la inflamación, siendo en ocasiones insuficientes para suprimirla y otras veces, habrá una producción excesiva que ocasionará lesión tisular y posteriormente un estado de inmunosupresión. Otro mecanismo implicado en el control de la infección es la autofagia, una forma de eliminar DAMP y PAMP, al empaquetar patógenos, orgánulos y proteínas dañadas en vesículas destinadas a la degradación lisosomal, reduciendo la activación del inflammasoma [28]. Se reconoce cada vez más que la resolución de la inflamación después de una infección grave no es simplemente un proceso pasivo de desaparición de las vías inflamatorias, sino que implica un conjunto coordinado de procesos celulares y señales moleculares recientemente reconocidas. Una vez que los organismos patógenos se han eliminado, las células dañadas y los leucocitos infiltrantes deben eliminarse del tejido. Si el medio de señalización es favorable,

estas células sufren apoptosis y son engullidas (principalmente por macrófagos), un proceso denominado eferocitosis, que liberará IL-10, TGF- β [29] y lípidos bioactivos (lipoxinas, resolvinas, proteínas y maresinas) que reducirán las ROS, la permeabilidad endotelial y el reclutamiento de leucocitos y mejorarán aún más la eferocitosis de macrófagos [30]. Las células T reguladoras y las células mieloides también pueden desempeñar papeles importantes en la eliminación de células citotóxicas y la producción de citocinas antiinflamatorias [29].

Durante años se ha pensado que la presentación inicial del paciente séptico (fiebre alta, shock y fallo respiratorio) se debía a la respuesta inflamatoria excesiva en relación con concentraciones elevadas de citocinas. Sin embargo, es mucho más complejo y en la actualidad, existen evidencias que desde el inicio del cuadro séptico se produce de manera concomitante una respuesta inflamatoria y otra anti-inflamatoria [26,31] (Figura 4). Al inicio de la sepsis, la respuesta pro-inflamatoria es muy superior a la anti-inflamatoria. En este sentido, se dice que existe un retraso de la respuesta anti-inflamatoria que dura de 2 a 4 días. Si la respuesta inflamatoria es exagerada, el proceso se convierte en sistémico ocasionando daño tisular de diferente gravedad, shock y eventualmente fallos orgánicos. Muchos pacientes fallecen rápidamente durante la fase hiper-inflamatoria, y los que sobreviven entran en una fase más prolongada, llamada hipo-inflamatoria o de inmunoparálisis, en la que son proclives a adquirir infecciones nosocomiales por gérmenes oportunistas y multirresistentes [32]. Sería más exacto el término de reprogramación celular, indicando cambios celulares durante este proceso. Estas observaciones han generado una hipótesis controvertida consistente en que la primera fase de hiper-inflamación evoluciona hacia la segunda fase de hipo-inflamación con una inmunosupresión significativa y con un incremento adicional de la mortalidad [33]. La inmunosupresión por ella misma no causa daño, pero hace que el paciente sea más propenso a la infección.

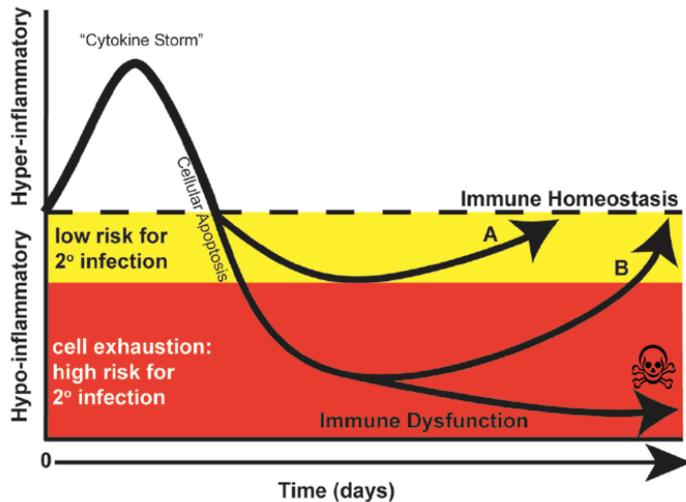


Figura 4. Respuesta inmune en la Sepsis. Adquirida de Boomer y col. (18)

Desafortunadamente, no disponemos actualmente en los laboratorios clínicos de pruebas capaces de medir el grado de inmunosupresión las 24 h del día. De la misma manera, medir niveles plasmáticos de citocinas no es suficiente para determinar si el paciente se encuentra en la fase hiper o hipo-inflamatoria debido a que existen niveles elevados tanto de mediadores pro-inflamatorios como de anti-inflamatorios al mismo tiempo [22].

La heterogeneidad de la respuesta inflamatoria durante la sepsis, podría ser en parte, la responsable del fracaso terapéutico de los distintos fármacos utilizados en los ensayos clínicos realizados hasta el momento [34]. Las dificultades para estratificar a los pacientes en base a su momento inmunológico particular pueden haber contribuido a los resultados desfavorables observados hasta ahora. Así, más allá del soporte orgánico, en la actualidad, no existe ningún fármaco específico para el tratamiento de la sepsis. Una de las intervenciones que se sigue explorando para intentar disminuir la mortalidad es el desarrollo de terapias que bloqueen o aumenten las respuestas inmunológicas del paciente en función de su estado inmunológico. Por lo tanto, la monitorización de la respuesta inmune durante el proceso séptico podría identificar a aquellos pacientes con mayor probabilidad de adquirir infecciones nosocomiales y con riesgo elevado de mortalidad. En ausencia de signos clínicos específicos que nos

la indiquen, deberíamos basar nuestro juicio en la valoración de biomarcadores que reflejasen el estado inmunitario de los pacientes. Uno de los mejores para monitorizar el sistema inmune innato en pacientes críticos lo constituye la expresión del antígeno HLA-DR en la superficie de los monocitos (mHLA-DR) medida por citometría de flujo y cuyo nivel nos indicará la probabilidad que tiene el paciente de fallecer o de adquirir infecciones nosocomiales [35]; sin embargo, solo se encuentra disponible en laboratorios de investigación. Para monitorizar el sistema inmune adquirido, disponemos del conteo absoluto de linfocitos [22]. Por ello, pensamos, que es esencial encontrar biomarcadores que permitan estratificar al paciente según la función inmunológica que poseen en un momento determinado de su evolución [36].

1.3.2 A nivel orgánico y tisular

La sepsis puede progresar desde una infección localizada hacia una inflamación sistémica leve y hasta un cuadro de shock séptico con afectación orgánica. En este sentido, la alteración de la función cardiovascular es una de la más afectadas y conocidas por los médicos intensivistas. La mayoría de los pacientes con sepsis tendrán un gasto cardíaco normal o elevado con resistencias vasculares sistémicas disminuidas pudiendo asociar disfunción biventricular. A pesar del gasto cardíaco elevado, existirá un déficit de oxigenación a nivel tisular debido a una alteración en su extracción, a la disfunción microcirculatoria por la inflamación endotelial y a la disfunción mitocondrial. Estas situaciones incrementarán el ácido láctico; sin embargo, también puede aumentar por glicolisis aeróbica acelerada, que excederá la capacidad de la enzima piruvato deshidrogenasa y por un incremento de la actividad adrenérgica β_2 [37].

Podemos considerar el endotelio como un órgano que cubre un área de casi 1,0 m² con un papel importante en la regulación del tono vasomotor, en el movimiento de las células y nutrientes hacia dentro y fuera de los tejidos, en el sistema de coagulación y en el equilibrio entre inflamación y señalización antiinflamatoria [38,39]. En la sepsis, alteraciones profundas del endotelio, provocarán la pérdida de la función de barrera produciendo un edema tisular generalizado.

Las alteraciones microcirculatorias incluyen la existencia de microtrombos, la expresión del factor tisular, el depósito de fibrina y la alteración de los mecanismos anticoagulantes (incluida la proteína C activada) pueden producir coagulación intravascular diseminada (CID), un síndrome asociado con mayor disfunción orgánica, sangrado (debido al consumo de plaquetas y factores de coagulación) y mortalidad [39] que se producirá por el desequilibrio entre la coagulación y la fibrinólisis. Las citocinas proinflamatorias, leucocitos y otras proteínas activan el endotelio convirtiéndolo en protrombótico con formación de trombos a nivel microvascular, inhibición de la fibrinólisis y acúmulo de trombos de fibrina, que a su vez poseen características pro-inflamatorias [40]. Los cambios endoteliales en la sepsis pueden afectar a otros órganos como se refleja en la Figura 5.

A nivel pulmonar, el aumento de permeabilidad en los capilares provocará acúmulo de líquido rico en proteínas en los espacios intersticiales del pulmón primero y posteriormente en los alveolos por la disfunción de la barrera epitelial de los mismos originando un desajuste entre la perfusión y la ventilación, hipoxemia arterial y reducción de la complianza pulmonar, que se conoce como síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) [41].

A nivel renal, provocará lesión renal aguda (LRA) que incrementará la mortalidad [42]. Hasta hace unos años se pensaba que la hipoperfusión era la causante de la misma, sin embargo, existen otras teorías que se desarrollarán posteriormente.

A nivel intestinal, el aumento de la permeabilidad epitelial pone en marcha un círculo vicioso de translocación bacteriana, con empeoramiento de la inflamación sistémica que puede perpetuar la disfunción de múltiples órganos. De hecho, en un estudio observacional prospectivo de 47 pacientes críticos en Canadá, la permeabilidad intestinal predijo de manera independiente la posterior disfunción multiorgánica [43].

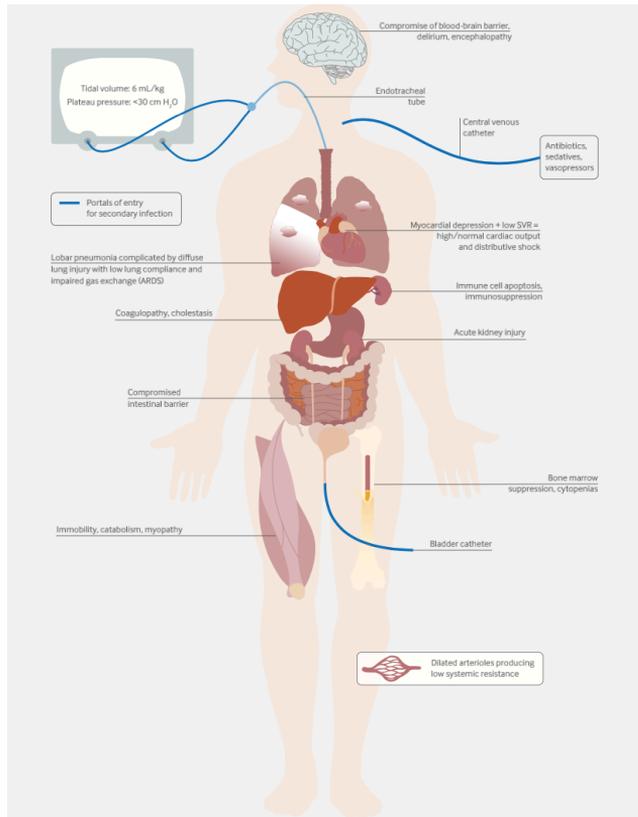


Figura 5. Fallos orgánicos en un paciente con shock séptico. Adquirida de Gotts y col. (23)

A nivel hepático, la disfunción puede manifestarse de dos maneras, como colestasis debida a la alteración de la depuración de la bilirrubina por parte de los hepatocitos y como hepatitis isquémica por hipoperfusión hepática, pues el gasto cardíaco aumentado no es suficiente para cubrir las demandas hepáticas de oxígeno incrementadas. Las citocinas inflamatorias y los lipopolisacáridos pueden participar en el desarrollo de la misma. También puede provocar coagulopatía por lesión endotelial microvascular, al existir desbalance entre fibrinólisis y coagulación [44].

A nivel neurológico, el sistema nervioso no es solo un espectador, pues participa desde el inicio con un papel principalmente antiinflamatorio. La encefalopatía suele ser lo primero que detectaremos pudiendo oscilar desde una alteración en la concentración hasta el coma profundo. El delirio es frecuente en pacientes

ventilados y se asocia a un aumento de la mortalidad [45] y déficits neurocognitivos. La encefalopatía puede ser causada como resultado de una infección del sistema nervioso central pero también por la disfunción endotelial sistémica al aumentar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y permitir la entrada de las citocinas inflamatorias en el cerebro causando edema perivascular, estrés oxidativo, leucoencefalopatía y alteración en los neurotransmisores [46].

A menudo, la situación proinflamatoria temprana se convierte en una situación tardía y prolongada de disfunción del sistema inmunológico. Los bazo extraídos de pacientes fallecidos en la UCI con sepsis activa muestran gran depleción de células T CD4+ y CD8+, y los esplenocitos restantes revelan reducciones marcadas en la producción de citocinas estimuladas [47]. La pérdida de linfocitos T CD4+ parece ser principalmente el resultado de la apoptosis [48], lo que impide que estos pacientes puedan desarrollar una respuesta inmune adecuada a sobreinfecciones. De hecho, varios virus (incluidos el citomegalovirus, el virus de Epstein-Barr, el virus del herpes simple y el virus del herpes humano tipo 6) a menudo se reactivan durante el curso de la enfermedad, y la viremia por citomegalovirus predice la infección por hongos y la mortalidad a los 90 días [49]. De manera similar, la linfopenia cuatro días después del diagnóstico de sepsis se asocia con una infección bacteriana secundaria y dicta la mortalidad a los 28 días y al año [50]. Por tanto, no es sorprendente que en la sepsis prolongada haya una tendencia microbiológica hacia la sobreinfección con organismos menos virulentos.

1.4 LESIÓN RENAL AGUDA ASOCIADA A LA SEPSIS

La lesión renal aguda asociada a la sepsis (s-LRA) en UCI es bastante frecuente. Según las series revisadas oscila entre el 16 y el 67 % y su incidencia aumenta un 2,8 % cada año [51]. Asocia un aumento de la morbilidad y mortalidad [42]. Actualmente no existe ninguna terapia efectiva en su manejo, siendo la identificación precoz que permitirá ofrecer un tratamiento de soporte, y el evitar la utilización de fármacos nefrotóxicos, los pilares fundamentales en su manejo. El diagnóstico se basa en el aumento de la creatinina plasmática y/o en la

disminución de la diuresis. Sin embargo, el aumento de la creatinina es un parámetro poco sensible por varias razones: 1) se afecta por fármacos que compiten con la secreción tubular ocasionando fluctuaciones de la misma sin reflejar cambios en la función renal; 2) algunas moléculas como la bilirrubina pueden interferir con las técnicas analíticas y retrasar el diagnóstico; 3) en ocasiones se desconoce la creatinina basal y no se sabe muy bien cómo manejar esto; 4) puede estar disminuida por la pérdida de masa muscular, habitual en estos pacientes, por la anasarca o por aumento del volumen de distribución, entre otras [52]. Y la oliguria no es específica de la LRA. A pesar de ello, se ha observado que la oliguria durante 3-5 horas en pacientes sépticos asocia LRA con bastante probabilidad [53].

La sepsis es uno de los principales estímulos contribuyentes de la LRA. Se estima que ocurre en el 10-20 % de los pacientes que ingresan en UCI por una infección y en el 50-70 % de los pacientes con shock séptico. La LRA asociada a la sepsis (s-LRA) se define como la LRA en presencia de sepsis sin otras causas que la expliquen[54]. Es la causa más común de LRA en UCI y se asocia con un peor pronóstico, aumentando la mortalidad. Además, la LRA de otras etiologías es un factor de riesgo para desarrollar sepsis o infecciones secundarias, observándose hasta en el 40 % [55] o incluso más. De esta manera, se cree que la relación entre LRA y sepsis es bidireccional [56]. La LRA es una disfunción orgánica incluida dentro del SDMO con una mortalidad superior al 50 %.

1.4.1 Fisiopatología de la s-LRA

Su fisiopatología no es del todo conocida. Hasta hace unos años, se pensaba que se debía a una necrosis tubular aguda por hipoperfusión global. Sin embargo, estudios en animales han demostrado que el flujo sanguíneo renal no cambia e incluso puede aumentar en la sepsis. Posiblemente, una de las limitaciones para avanzar en el conocimiento fisiopatológico es la falta de biopsias renales disponibles para su estudio al no realizarse debido a los riesgos inherentes [57]. El concepto de s-LRA se ha extrapolado de modelos de sepsis con animales y de estudios postmortem de pacientes con sepsis, por lo que debe interpretarse con cautela, revelando que la histología renal suele estar bien preservada sin

evidenciar necrosis tubular. Además, la lesión renal por isquemia-reperfusión aún siendo un factor importante, no es el único para su desarrollo, implicando varios mecanismos en la patogénesis de la s-LRA [58] principalmente tres: la inflamación renal [59], la disfunción microcirculatoria a nivel peritubular y glomerular [60] y la reprogramación metabólica [61]. En este sentido, se ha propuesto una teoría unificada de s-LRA con la intención de integrar a varios mecanismos en un marco coherente de interacción sinérgica (56).

En la sepsis, los mediadores inflamatorios derivados de los patógenos y de las células inmunes activadas (DAMP y PAMP) guían al sistema inmune en la lucha contra la infección. Estas moléculas son reconocidas por las células del sistema inmune pero también por las células del túbulo renal (vía microcirculación peritubular o filtrado glomerular) gracias a los RRP que expresan, que incluyen receptores tipo Toll (en concreto TLR-4 y TLR-2), receptores tipo NOD y receptores helicasa tipo RIG-1 [62](Figura 6). Cuando las células tubulares se exponen a los PAMP, las células proximales están sometidas a un aumento del estrés oxidativo y producirán ROS y disfunción mitocondrial [62]. Las ROS engloban a un grupo de moléculas (superóxido, peróxidos, radical hidroxilo y oxígeno) que se producen en diversas reacciones bioquímicas en los orgánulos celulares como las mitocondrias entre otros. Los ROS contribuyen a la homeostasis del organismo e incluso poseen actividad antibacteriana; sin embargo, cuando hay una producción excesiva como en la sepsis, pueden tener efectos deletéreos, con disfunción celular y orgánica, promoviendo la apoptosis. Además, también activarán los inflamosomas NLPR3 que son complejos intracelulares que actúan como sensores y mediadores de la inflamación y que forman parte de la familia de los receptores tipo NOD[63]. En teoría, todas las nefronas estarían expuestas a estos patrones moleculares, no obstante, las células tubulares se afectan de manera parcheada, lo que podría indicar una distribución heterogénea del flujo sanguíneo por disfunción microvascular [57]. Sabemos que la sepsis altera la distribución del flujo, disminuyendo la proporción de capilares con flujo continuo e incrementando la de capilares con flujo lento o sin flujo resultando en hipoperfusión e hipoxia [60,64]. La microcirculación renal se alterará de la misma manera. Existen varios mecanismos que pueden producir disfunción microvascular como la lesión

endotelial, la respuesta del sistema nervioso autónomo, el desprendimiento de glicocálix y la activación de la cascada de la coagulación [60,65]. Los mediadores inflamatorios producirán disfunción endotelial y rotura de glicocálix potenciando la agregación y la adhesión de los leucocitos y plaquetas con disminución del flujo sanguíneo, cuyas consecuencias serán un aumento de la susceptibilidad en la formación de microtrombos y oclusión de los capilares. Además, la disfunción endotelial también producirá vasodilatación con aumento de la permeabilidad y fuga de líquido endotelial provocando edema intersticial peritubular que alterará la perfusión de las células renales tubulares [58]. La hemodinámica microcirculatoria también juega un papel en la s-LRA. La tasa de filtración glomerular es independiente de los cambios del flujo sanguíneo renal y estará determinada por la presión hidrostática intraglomerular. La caída de la misma producirá el descenso de la tasa de filtración glomerular que dependerá de la vasoconstricción de la arteriola aferente y vasodilatación de la eferente [66,67]. De esta manera, en la sepsis, habrá una redistribución del flujo sanguíneo hacia la médula[68] gracias a la existencia de unos capilares que evitarán el glómulo y conectarán directamente la arteriola aferente con la eferente lo que podría explicar en parte la derivación de sangre propuesta en la s-LRA (*shunts*) [69,70] (Figura 7). Sin embargo, no está claro cómo y cuándo estas derivaciones se abren en la sepsis.

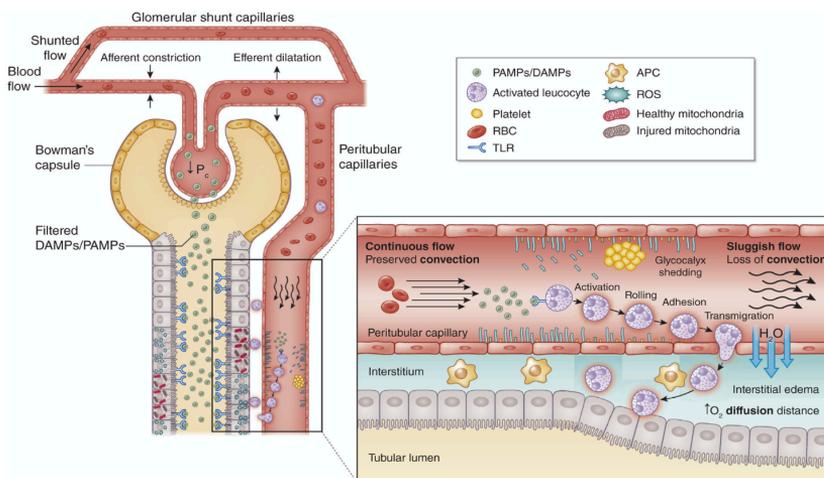


Figura 6. Alteraciones microcirculatorias e inflamatorias en las células tubulares renales. Adquirida de Peerapornratana y col. (57)

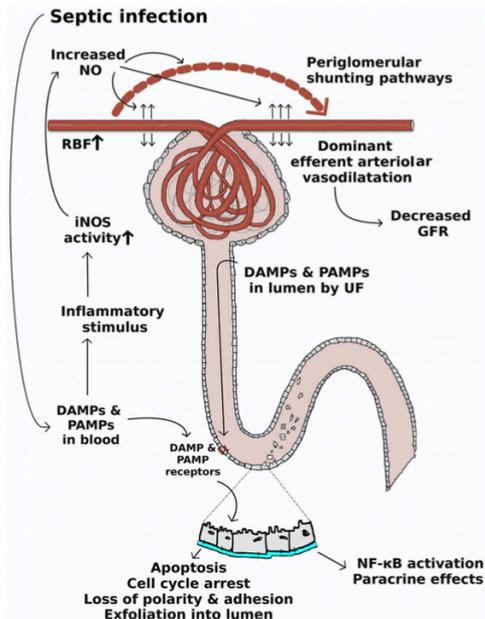


Figura 7. Mecanismos fisiopatológicos propuestos en la s-LRA. Adquirida de Pettila y col. (69)

El óxido nítrico (NO) también contribuye a la disfunción microvascular. La sepsis aumenta la producción de NO, siendo la producción de la NO sintasa inducible (iNOS), uno de sus catalizadores más importantes y heterogénea [71], lo que determinará que la concentración de NO regional también lo sea, y a pesar de tener unos niveles sistémicos aumentados de NO, pueda haber lechos vasculares sin NO, lo que explicaría el fenómeno de derivación observado a nivel capilar [72]. La inhibición selectiva de la iNOS puede restaurar los trastornos microcirculatorios renales provocados por la sepsis.

Además, la alteración en la microcirculación enlentecerá el flujo sanguíneo y esto se asociará con el estrés oxidativo tubular. La disfunción microvascular inducida por la sepsis produce áreas de flujo peritubular lento, que parece fundamental para la amplificación de la señal inflamatoria. Este tránsito prolongado se traducirá en un mayor tiempo de exposición del endotelio y de las células epiteliales tubulares vecinas a leucocitos activados que secretan citocinas y a otros DAMP y PAMP, lo que amplificará la señal inflamatoria y producirá un

mayor estrés oxidativo. Las células tubulares responderán a dicho estrés oxidativo vacuolizándose a nivel apical y adaptándose al ambiente microtubular y en última instancia enviarán señales a otras células tubulares para que se apaguen de forma paracrina[57]. El estrés oxidativo es un sello distintivo de la lesión tubular inducida por la sepsis que ocurre precozmente en zonas con flujo lento y se ha localizado en las vacuolas apicales. De esta manera, se piensa que, aunque la hipoxia puede contribuir a la lesión tubular y a la inflamación e inducir una respuesta adaptativa, no es el único mecanismo, y que la inflamación y el estrés oxidativo inducidos por los DAMP a través de la activación de TLR-4 pueden ser igual de importantes [73].

Así pues, la lesión tubular será iniciada por la inflamación y el estrés oxidativo lo que originará una respuesta adaptativa priorizando la supervivencia celular con la reprogramación metabólica de las células tubulares renales durante la sepsis. De esta manera, se optimiza el consumo de energía, priorizando el consumo energético con disminución del metabolismo celular y detención del ciclo celular, todo ello orquestado a nivel mitocondrial, que evitará agravar el daño celular con posibilidad de recuperar la función celular. Las mitocondrias intervendrán en tres procesos clave [57,58]: en la priorización del consumo energético, manteniendo la función de los distintos orgánulos a través de procesos de control de calidad como la autofagia y mitofagia (mecanismo especializado por el cual las mitocondrias dañadas son señaladas y envueltas en autofagosomas dentro de la célula), contribuyendo en la replicación del ADN y del ciclo celular. Uno de los procesos que más energía consume es la replicación (duplicación de todo el genoma, proteoma y lipidoma de la célula). Si durante el ciclo celular, la célula no tiene suficiente energía para duplicarse, ésta detendrá el ciclo celular para evitar la muerte por déficit energético. En apoyo de este proceso en la sepsis humana, se han descubierto dos marcadores de detención del ciclo celular, el inhibidor tisular de la metaloproteinasa-2 (TIMP-2) y la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 7 (IGFBP7), como los mejores predictores del desarrollo de s-LRA [74]. Aunque se han realizado avances en los últimos años en la comprensión de s-LRA, son necesarios más estudios para profundizar en los mecanismos por los que la sepsis causa lesión orgánica, especialmente en la LRA.

En este sentido, la identificación de algún perfil proteico gracias a la proteómica, podría ofrecer más información sobre la respuesta inflamatoria, la disfunción microvascular y la regulación de la energía celular, factores clave para poder incidir en la prevención y/o en el tratamiento de la s-LRA.

1.4.2 Estrategias terapéuticas de la s-LRA

Hasta el momento actual no disponemos de ninguna medida terapéutica específica para el tratamiento de la s-LRA. Realizar un diagnóstico precoz es fundamental pues permitirá optimizar otros tratamientos, y lo haremos monitorizando la diuresis y la creatinina con las limitaciones expresadas con anterioridad, y utilizando biomarcadores como el producto de IGFBP7 y TIMP-2. De la misma manera, utilizar las mejores estrategias para combatir la sepsis como el uso precoz de antibióticos, el control del foco de infección, la adecuada resucitación y el uso de vasopresores cuando estén indicados es prioritario, al igual que evitar fármacos nefrotóxicos cuando sea posible [75].

Instaurada la s-LRA, el balance entre los mediadores pro y anti-inflamatorios afectará la extensión del daño renal y su reparación tras el evento agudo. Durante años se ha intentado definir la recuperación de la LRA proponiéndose varias definiciones. La creatinina no es el mejor parámetro para medir la reserva renal y en este sentido no será el mejor biomarcador para cuantificar la recuperación renal, especialmente en pacientes críticos por el efecto que la pérdida muscular tiene sobre la misma. Recientemente, la ADQI (*Acute Dialysis Quality Initiative*) ha propuesto el concepto de enfermedad renal aguda, dividiéndola en dos fases, la primera abarca desde el día 1º al 7º de LRA y la segunda, al periodo comprendido desde el 8º al 90º día. Este periodo sirve como marco para definir la recuperación o la progresión a enfermedad renal crónica [76]. Tras la LRA, a menudo, existe un proceso de reparación parcial, en parte debido a la hipoxia prolongada y a la secreción sostenida de citocinas profibróticas (IL-13) que originará una disfunción renal crónica [77,78].

Actualmente en estudios preclínicos se han realizado experimentos que demuestran que al bloquear las citocinas y las quimioquinas producidas localmente que reclutan células efectoras inflamatorias en el tejido lesionado se

puede abrogar la LRA. Sin embargo, trasladar esto a estudios en humanos es muy difícil y complicado [79]. En estos casos, solo disponemos de la purificación de la sangre con dispositivos extracorpóreos, que actuarán como soporte orgánico y a su vez pueden ofrecer beneficios fisiológicos adicionales sobre la inmunohomeostasis. Sin embargo, el momento idóneo para su inicio es controvertido. Cuando existe riesgo vital o indicaciones propiamente renales (Potasio > 6,5 mEq/L, pH < 7,10, anuria, sobrecarga hídrica con repercusión respiratoria que no responde al tratamiento y clínica atribuible a la uremia) no existe duda que el inicio debe realizarse lo antes posible. En otras circunstancias, la decisión de empezar dependerá del médico responsable del paciente en ese momento, pues el problema actual es la heterogeneidad de los estudios tanto por el tipo de pacientes estudiados como por la ausencia de consenso a la hora de definir que es depuración renal precoz o tardía. Los defensores de la terapia precoz argumentan que sus beneficios se atribuyen a un control más rápido de las alteraciones metabólicas y urémicas, así como una prevención más efectiva de la sobrecarga hídrica. Sin embargo, los defensores de la terapia tardía, refieren que existe un porcentaje de pacientes con LRA que no las precisarán y al aplicar un manejo precoz, no se da tiempo a la recuperación espontánea de la función renal. Actualmente existen 4 ensayos clínicos con resultados controvertidos respecto al momento ideal de inicio de estas terapias [80–83] y en este sentido, la proteómica podría ayudar a encontrar algún biomarcador que ayudase a tomar la decisión de inicio precoz o tardío.

1.4.3 Técnicas continuas de depuración extrarrenal

Un 5-10 % de los pacientes críticos que desarrollarán LRA precisarán técnicas de reemplazo renal (TRR), siendo la mortalidad en estos muy elevada (> 50%), además de asociar un aumento de la estancia hospitalaria, de los costes y de la enfermedad renal crónica.

Las TRR ayudan a corregir los trastornos del equilibrio ácido-base y electrolitos, a regular el volumen del agua corporal y a eliminar productos tóxicos, previniendo algunas complicaciones que podrían ser letales para el paciente. Sin embargo, no suplen otras funciones del riñón como la reabsorción de

aminoácidos, activación de la Vitamina D, producción de eritropoyetina y gluconeogénesis [84,85].

Actualmente en un paciente crítico con LRA podemos aplicar distintas modalidades: hemodiálisis intermitente (HDI), diálisis peritoneal (DP), diálisis diaria extendida (DDE), diálisis lenta de baja eficiencia (SLED) y las técnicas continuas de reemplazo renal o de depuración extrarrenal (TCDE). Elegir una terapia u otra dependerá de la logística del entorno, de la experiencia de cada centro, de la situación del paciente y del objetivo terapéutico a conseguir. Las más utilizadas son la HDI y la TCDE. No existen estudios que demuestren la superioridad de una respecto a la otra en términos de mortalidad. Las TCDE tienen la ventaja de ofrecer mayor estabilidad hemodinámica pues al ser un tratamiento lento y continuo evita los cambios bruscos de volemia y de electrolitos que se producen con la HDI, permitir un control más riguroso de los fluidos y tener una tasa de complicaciones escasa. Las TCDE intentan sustituir la función renal alterada las 24 horas del día, los 365 días del año.

Las TCDE consisten en la aplicación de un dispositivo para la purificación extracorpórea de la sangre, compuesto por una membrana biocompatible de alta permeabilidad, baja resistencia e idealmente con capacidad de adsorción de las sustancias que se deseen depurar. La sangre del paciente sale a través de un catéter gracias a una bomba peristáltica, entrando en un circuito extracorpóreo, y a nivel de la membrana sintética (constituida por fibras huecas realizadas con polisulfona), se pondrá en contacto con soluciones de diferente composición y por mecanismos difusivos, convectivos o de adsorción se eliminan moléculas tóxicas, inmunológicas e inflamatorias, y posteriormente será devuelta al paciente a través del mismo catéter (Figura 8). Estas técnicas son aplicadas de manera continua durante las 24 horas del día y durante el tiempo necesario, hasta la recuperación de la función renal del paciente.

Los mecanismos físicos implicados en el intercambio de moléculas en las TRR son:

- Ultrafiltración - Convección: se genera una diferencia de presión a ambos lados de la membrana que permite la salida de líquido desde el compartimento sanguíneo arrastrando sustancias disueltas capaces de

atravesar el poro y que viajan libres en el plasma. Si el volumen de ultrafiltrado (UF) generado es elevado, requerirá la administración de líquido de sustitución. Su eficacia dependerá de la presión transmembra o gradiente de presión, del peso molecular (PM) y de la permeabilidad y superficie de la membrana.

- **Difusión:** consiste en el movimiento aleatorio de moléculas desde la solución de mayor a la de menor concentración. Por el compartimento del ultrafiltrado circula un flujo continuo de líquido de diálisis a contracorriente del flujo sanguíneo lo que permite el paso de moléculas de pequeño tamaño ($PM < 1.000 \text{ Da}$) que viajan no unidas a proteínas a través de la membrana semipermeable por gradiente de concentración. El objetivo es que el efluente (mezcla de ultrafiltrado y/o líquido de diálisis) tenga la máxima concentración de la molécula diana a eliminar. Si se permite un tiempo suficiente, desaparecerá el gradiente de concentración entre las dos soluciones. Cuanto mayor sea el PM de un soluto, menor será su tasa de transporte a través de la membrana semipermeable. Existen unas membranas con alto punto de corte, es decir, con poros de mayor tamaño, a través de los cuales se eliminarán moléculas más grandes (15-60 kDa), incluyendo mediadores inflamatorios, incluso con mecanismos difusivos, y en este sentido, su utilización en diálisis ofrece resultados similares a la hemofiltración. Los elementos determinantes del mecanismo difusivo son: el gradiente de concentración, la superficie de la membrana, el PM y la resistencia de la membrana (que debe ser fina y ofrecer la menor resistencia).
- **Adsorción:** capacidad de una membrana para retener en su superficie o espesor determinadas moléculas (péptidos, proteínas, citocinas, etc.). La capacidad de adsorción es saturable e implica cambios frecuentes de filtros si pretendemos mantener esta funcionalidad de la membrana. Existen algunas membranas cuya característica esencial es la eliminación de mediadores inflamatorios.

La eliminación de citocinas es mayor con convección y adsorción que con difusión a menos que se utilicen membranas de alto punto de corte con mecanismos difusivos, en cuyo caso la eliminación será similar.

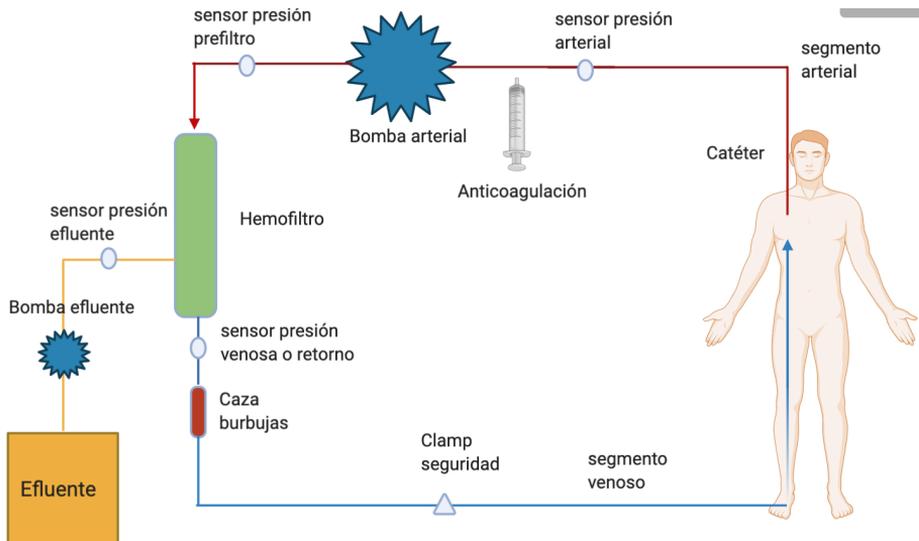


Figura 8. Componentes del circuito de la TCDE

Un factor a tener en cuenta cuando se indican estas terapias, es mantener permeable el circuito extracorpóreo el mayor tiempo posible. Para ello, se realiza anticoagulación regional del circuito extracorpóreo, bien con heparina no fraccionada o bien con citrato trisódico. La elección, dependerá de las características del paciente y se realizará acorde al protocolo de la unidad. El anticoagulante de elección será la heparina no fraccionada y en casos de sangrado, trombocitopenia, alteración de la coagulación, donde está contraindicada la utilización de la misma, y en aquellos pacientes que precisen más de 2 circuitos al día por coagulación del sistema, se elegirá el citrato como anticoagulante.

Requieren canalizar una vena central (femoral o yugular preferentemente) con un catéter de doble luz, con un grosor entre 11-13 French, de tal manera que la sangre sale de una luz (considerada como rama arterial), entra en el circuito donde se realiza la depuración de moléculas y regresa al paciente por la otra luz (considerada la rama venosa).

Dentro de las TCDE se pueden indicar distintas modalidades a criterio del facultativo responsable. Las modalidades más utilizadas en nuestra unidad son

hemodiafiltración venovenosa continua (HDFVVC), hemofiltración venovenosa continua (HFVVC) y hemodiálisis venovenosa continua (HDVVC) (Figura 9).

- Hemofiltración veno-venosa continua (HFVVC)

La HFVVC [84] utiliza como mecanismo físico la convección con una membrana de alta permeabilidad y el sistema funciona por diferencia de presión a ambos lados de la misma. Si aumentamos la presión en el lado de la sangre (presión hidráulica) o la disminuimos en el lado del UF (presión hidrostática) se genera un gradiente de presión que origina salida de plasma del compartimento sanguíneo que arrastrará solutos diluidos en él. Permite el aclaramiento de moléculas medianas y pequeñas. Como el volumen del UF generado con esta técnica puede ser muy alto (10-25 L/día) requiere líquido de sustitución. Los flujos de sangre utilizados con esta modalidad oscilan entre los 125 y 250 ml/min y entre 25-30 ml/Kg/h para el UF.

- Hemodiálisis veno-venosa continua (HDVVC)

La HDVVC [84] utiliza como mecanismo físico la difusión. Consiste en hacer pasar por el compartimento del efluente un flujo continuo de líquido de diálisis a contracorriente del flujo sanguíneo, que permitirá el paso de moléculas de bajo PM por diferencia de concentración. Se utilizará como dializador una membrana de polisulfona.

- Hemodiafiltración veno-venosa continua (HDFVVC)

La HDFVVC [84] es la modalidad más utilizada actualmente, combina las dos anteriores, hemofiltración cuyo mecanismo físico es la convección y hemodiálisis que utiliza como mecanismo físico la difusión. Como el volumen del UF generado con esta técnica puede ser muy alto, se requiere líquido de sustitución que se administrará postfiltro. La dosis inicial de tratamiento será 25-30 ml/Kg/h entre convección y difusión. El flujo de la bomba de sangre oscilará entre 150 y 250 ml/min y el de diálisis entre 10-40 ml/min. Se utilizará un dializador con una membrana de polisulfona entre 1,5-1,6 m². Permite el aclaramiento de moléculas de hasta 30.000 Dalton.

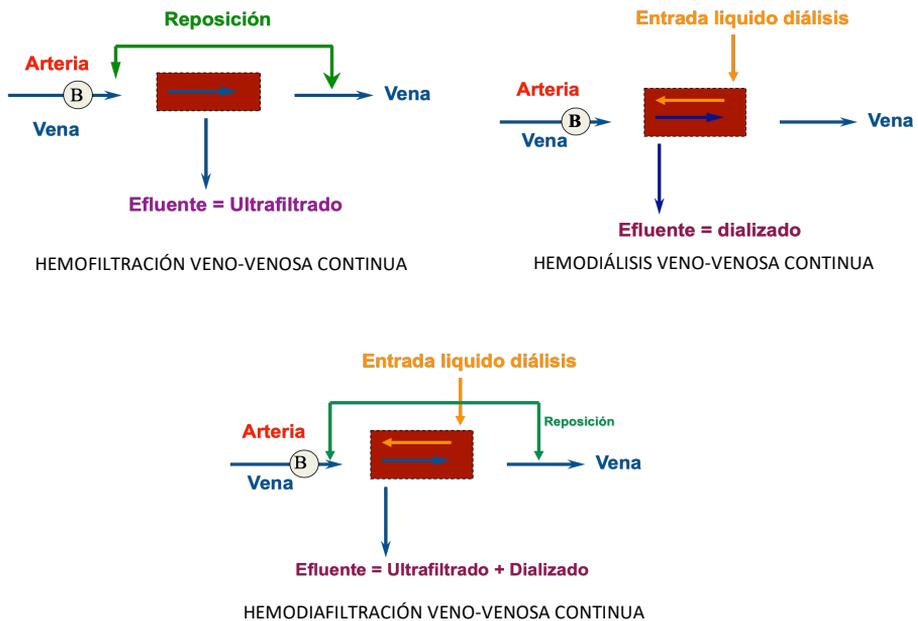


Figura 9. Modalidades de Terapias Continuas de Depuración Extrarrenal

Entre los aspectos más relevantes que pueden aportar estas técnicas y que pueden mejorar la situación clínica del paciente, se encuentran el descenso de la temperatura, que mejorará la hemodinámica, la normalización del pH, que en estos pacientes se acompaña de un aumento en la eficacia de los vasopresores pudiendo disminuir la dosis de los mismos, la extracción continua y lenta de fluido, que se extraerá del espacio intersticial disminuyendo el edema intersticial con mejoría de la perfusión orgánica y la eliminación de mediadores pro-inflamatorios, lo que podría tener relación con la mejoría hemodinámica observada tras la instauración de las mismas. Es lógico pensar que se eliminan estas sustancias pues se encuentran en el torrente circulatorio, son hidrosolubles y poseen un PM que las coloca en el rango de eliminación de algunas técnicas (convección con membranas sintéticas, difusión con membranas de alto poro o adsorción sobre la superficie de la membrana). Sin embargo, sabemos que estas sustancias son producidas y actúan a nivel local y no en el espacio intravascular sobre el que actuarán las TCDE y que muchas veces su tamaño es superior al que puede ser eliminado mediante estas técnicas [86]. Se ha demostrado que la convección elimina citocinas [87], que las membranas

con alto punto de corte poseen efectos beneficiosos sobre la inmunidad celular [88] y que la HDI con estas membranas eliminan IL (IL-6 y antagonistas del receptor de IL-1) y otras proteínas [89], permitiendo disminuir la dosis de vasopresores utilizados en pacientes con shock séptico para conseguir estabilidad hemodinámica y una mejor perfusión orgánica, sin incrementar los efectos adversos [88].

Aunque es un concepto aceptado, la transducción exacta de las señales y otras vías moleculares durante la respuesta inflamatoria desregulada no está del todo clara. Profundizar en niveles moleculares podría ayudar a identificar esa señalización de mensajeros (intracelulares, intercelulares y/o interorgánicos) y biomarcadores para un diagnóstico rápido y exacto, así como descubrir los mecanismos precisos de la disfunción orgánica, desarrollar nuevos fármacos y monitorizar su eficacia terapéutica [90].

Con este objetivo se han realizado varios estudios mediante la utilización de técnicas de biología molecular y de genética. Algunos de estos estudios sugieren que la presencia de polimorfismo genético específico podría predecir el pronóstico del paciente [91]; otros, aplican técnicas de “*microarrays*” para comparar niveles de expresión genética tras la administración de endotoxina[92]. Sin embargo, los estudios de expresión genética no pueden predecir la expresión ni la dinámica de las respectivas proteínas implicadas dado que los patrones de expresión de proteínas son procesos altamente regulados, para cuyo estudio deberían aplicarse aproximaciones proteómicas[93].

1.5 PROTEÓMICA

El término proteoma lo utilizó por primera vez Marc Wilkins en 1995 para describir el complemento proteínico de un genoma. Poco después se empleó el término proteómica para señalar el estudio del proteoma, que es el conjunto de todas las proteínas presentes en una célula, un organismo o un medio biológico en un momento determinado. Esto incluye no sólo las proteínas traducidas directamente a partir del material genético, sino también todas las proteínas modificadas por el corte y empalme alternativo de los transcritos primarios, el procesamiento posterior a la traducción o la combinación de ambos. El

proteoma no es un componente estático como el genoma, sino dinámico, ya que refleja tanto el programa genético intrínseco de las células como el impacto de su entorno. Comparado con el genoma, el proteoma proporciona una visión más realista de una situación biológica y, por lo tanto, se espera que sea más útil que el análisis genético para valorar, por ejemplo, la presencia de una enfermedad, su progresión y su respuesta al tratamiento [94].

Dado que las proteínas llevan a cabo la función de los genes, se espera que el conocimiento del proteoma aporte información fundamental de las funciones celulares tanto bajo condiciones fisiológicas como patológicas.

Los análisis proteómicos hacen referencia a la aplicación de enfoques de alto rendimiento para el análisis de la expresión de proteínas. Actualmente, la investigación proteómica es considerada como un tópico candente y está aumentando su aplicación en humanos. Permite el análisis del proteoma, que es el conjunto de todas las proteínas expresadas en el organismo. La síntesis proteica es el resultado final de la expresión genética y está directamente relacionada con el fenotipo. Esto representa una ventaja respecto a otras ciencias ómicas. La proteómica revelará un listado de todas las proteínas expresadas y su abundancia en diferentes muestras orgánicas. Todas las enfermedades están causadas por alteraciones y modificaciones en la expresión de proteínas, por lo que la identificación de las mismas será de gran importancia para conocer los mecanismos moleculares y las vías implicadas en la sepsis, shock séptico, s-LRA y permitirnos encontrar nuevas dianas terapéuticas, así como futuros biomarcadores (Figura 10)

La proteómica se clasifica en proteómica de expresión, estructural y funcional. La proteómica de expresión cuantifica las proteínas y compara la expresión del proteoma o subproteomas entre distintas muestras. La proteómica estructural identifica las proteínas, su localización y define las interacciones entre ellas. La proteómica funcional permite estudiar y caracterizar grupos seleccionados de proteínas que informarán sobre la señalización de las proteínas, la localización subcelular, las modificaciones post-transcripcionales, los mecanismos de enfermedad y las interacciones entre proteínas y fármacos, entre otras [95].

proteómica de expresión cuantifica las proteínas y compara la expresión del proteoma o subproteomas entre distintas muestras. La proteómica estructural

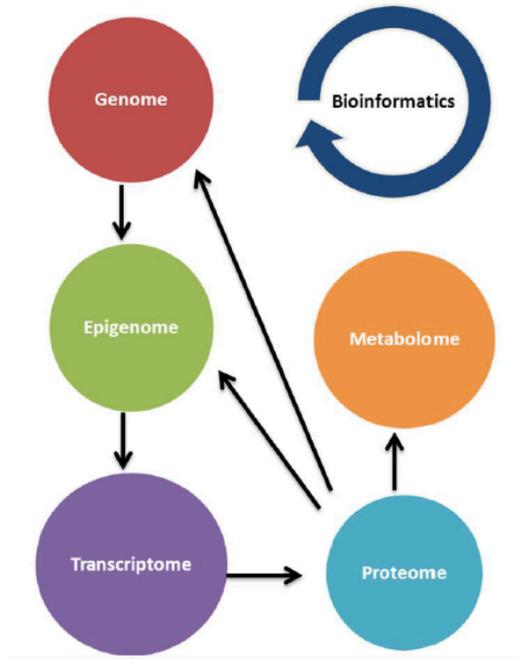


Figura 10. Esquema de las ciencias ómicas que pueden contribuir a los estudios biológico. Adquirida de Camprubí-Rimblas y col. [95]

Desde un punto de vista funcional, Putnam clasifica las proteínas plasmáticas en los siguientes grupos (92):

- Proteínas secretadas por tejidos sólidos y que actúan en el plasma: habitualmente secretadas por el hígado e intestinos. Un aspecto clave de estas proteínas es su elevado PM (> 45kDa) que sobrepasa el umbral de filtración del riñón y de ahí su tiempo prolongado en plasma.
- Inmunoglobulinas: funcionan en plasma y son muy complejas.
- Ligandos de receptor de larga distancia: incluye las hormonas con distintos tamaños.
- Ligandos de receptores locales: incluye las citocinas y otros mediadores de respuesta celular, con PM por debajo del umbral de filtración del riñón, por lo que estarán poco tiempo en el plasma. Altos niveles pueden causar efectos deletéreos incluso lejos del lugar de síntesis, como en la sepsis.

- Pasajeros temporales: son proteínas no hormonales que atraviesan el compartimento plasmático temporalmente de camino al sitio donde realizarán su función principal.
- Productos de filtración de tejidos: estas proteínas funcionan en las células, pero pueden ser liberadas al plasma con la muerte o daño celular. Incluyen la mayoría de los más importantes marcadores diagnósticos.
- Secreciones aberrantes: proteínas liberadas por tumores u otros tejidos enfermos. Incluye los marcadores tumorales.
- Proteínas extrañas: son proteínas de microorganismos infecciosos o parásitos.

Uno de los principales problemas al aplicar las técnicas de proteómica a las muestras de plasma es el alto contenido de albúmina y otras proteínas que enmascaran la presencia de proteínas menos abundantes y por ello hay que preparar las muestras. Las proteínas plasmáticas se distribuyen según su peso molecular (PM). Más del 50 % tienen un PM más pequeño que el supuesto umbral de filtración del riñón (45 kDa), lo que sugiere que, si persisten en el plasma sin ser eliminadas por el riñón, será porque forman parte de complejos de proteínas más grandes o que están sujetas a mecanismos específicos de retención [93]. Según la concentración de las proteínas clínicamente medidas en plasma, éstas se dividen en: proteínas de alta abundancia como la albúmina, de media abundancia como las proteínas de fuga tisular y de baja abundancia como las citocinas.

En la última década se han realizado estudios proteómicos que nos han revelado información en la fisiopatología de la sepsis, involucrando vías del complemento y de la coagulación [96] y en el diagnóstico y pronóstico de la sepsis como la proteína YKL-40 segregada por macrófagos, condrocitos y otras células, involucrada en la inflamación, aunque está pendiente la validación de su valor diagnóstico en otros estudios [97]. Paugam-Burtz y col. en pacientes trasplantados hepáticos detectaron 5 proteínas plasmáticas que se expresaban de manera diferente en pacientes con y sin sepsis, si bien no llegaron a su identificación [98] y de la misma manera, Kalenka y col., identificaron 4 proteínas plasmáticas claramente diferenciales entre los supervivientes y no supervivientes, en 18 pacientes con sepsis grave y/o shock séptico [99].

Investigadores y clínicos tratan de correlacionar escalas de gravedad como el APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health disease Classification System II*) y SOFA con citocinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias, con PCR (proteína C reactiva) y PCT (procalcitonina). Esta correlación o la combinación de diferentes biomarcadores podría ser el candidato más potente para predecir el pronóstico clínico en pacientes con sepsis. Es necesario encontrar nuevos biomarcadores que ayuden a un mejor diagnóstico y pronóstico en la sepsis.

Un reciente avance en el análisis proteómico ha sido la introducción de la adquisición independiente de datos conocida como SWATH (*Sequential window acquisition of all theoretical fragment ion spectral*) destacando entre sus ventajas una mejor cuantificación de las proteínas contenidas en las muestras biológicas.

Las TCDE se han utilizado para tratar pacientes sépticos en las UCI [100]. El UF generado con estas técnicas contiene multitud de péptidos y proteínas (entre 1,5 y 18,5 g al día), lo que le convierte en una gran fuente potencial de biomarcadores. En este sentido, Gong y col. investigaron los cambios en los niveles de proteínas acontecidos en pacientes con Sepsis grave y TCDE, identificando diez proteínas que se expresaban de forma diferente durante el uso de las mismas. Siete de estas proteínas disminuían y tres aumentaban sus niveles plasmáticos durante el soporte con TCDE [101]. Molina y col. consiguieron detectar en el UF de pacientes post-operados de cirugía cardíaca, más de 292 proteínas, de las cuales más del 70% no habían sido identificadas previamente en el plasma [102].

La eliminación de mediadores inflamatorios con estas técnicas podría ser de interés para modular el proceso séptico. Las fluctuaciones plasmáticas de los mediadores de inflamación no se han relacionado con su eliminación con estas técnicas, ni estudiado hasta el momento, de ahí que posiblemente el efecto beneficioso no este aclarado. El conocimiento detallado de las proteínas eliminadas durante estas terapias y su relación con las detectadas simultáneamente en el plasma con técnicas proteómicas, podría contribuir a mejorar el conocimiento fisiopatológico del shock séptico y de la s-LRA, así como esclarecer si la aplicación de estas TCDE pueden ayudar a modificar la respuesta inflamatoria tanto sistémica como intrarrenal e influir en la evolución, al tratarse

de una población de pacientes muy graves y con alta tasa de mortalidad. Además, es posible que la identificación de determinados perfiles proteómicos pueda ayudar a establecer el momento idóneo de la aplicación de dichas técnicas para que el beneficio sea mayor y permita estratificar la respuesta inflamatoria en la que se encuentra el paciente para dirigir futuras terapias según el momento evolutivo del proceso.

En el presente proyecto se aplicarán técnicas proteómicas no dirigidas a muestras plasmáticas de pacientes con sepsis y/o shock séptico con lesión renal aguda y a muestras de ultrafiltrado obtenidas simultáneamente de los pacientes que precisen TCDE en distintos momentos evolutivos, con el objetivo de identificar y cuantificar proteínas de mediana y baja abundancia e intentar relacionarlas con la evolución clínica y biológica de la respuesta inflamatoria sistémica.

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

La identificación y cuantificación de las proteínas plasmáticas y del ultrafiltrado obtenidas simultáneamente en pacientes con shock séptico y lesión renal aguda, en diferentes momentos evolutivos, contribuirá a determinar la posible existencia de perfiles específicos de proteínas y su relación con la respuesta inflamatoria sistémica, la disfunción multiorgánica, la necesidad o no de iniciar TCDE, la aparición de sobreinfección nosocomial y la supervivencia a los 30 días.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo General

Identificar y cuantificar las proteínas plasmáticas de los pacientes con sepsis y/o shock séptico y LRA, y las eliminadas simultáneamente en el ultrafiltrado de los pacientes que precisen TCDE.

2.2.2 Objetivos Específicos

- Identificar proteínas plasmáticas que puedan utilizarse como posibles biomarcadores y que ayuden a decidir si iniciar las TCDE de manera precoz o tardía.
- Detectar si existen proteínas diferenciales entre los pacientes que sobreviven y los que no.
- Comprobar si existen diferencias proteómicas en los pacientes que presentan sobreinfecciones nosocomiales respecto a los que no las presentan.
- Analizar los procesos biológicos en los que participan las proteínas identificadas y cuantificadas.
- Determinar la posible relación entre las proteínas identificadas y la evolución de la respuesta inflamatoria sistémica y la disfunción orgánica.

3 MÉTODOS

El estudio se ha completado en tres fases. La primera ha incluido la recolección de las muestras objeto de estudio (plasma y ultrafiltrado) de los pacientes incluidos ingresados en el Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, así como la obtención de sus datos clínicos y analíticos. La segunda fase se ha realizado en la Universidad de Valencia, en el Servicio de Proteómica, donde se ha desarrollado la parte experimental, que incluye el procesado de las muestras, la optimización de los protocolos para cada tipo de muestra, la realización de las librerías de espectros de masas para el tratamiento posterior de las muestras de la población de estudio y el análisis de las proteínas identificadas y en la tercera fase se han analizado los resultados, redactado las conclusiones y se están preparando las publicaciones.

3.1 REQUISITOS DEONTOLÓGICOS

El estudio fue autorizado por el Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia con el número de registro 2016/0289 (Anexo I). Se ha solicitado a todos los pacientes y en su defecto a sus familiares o representantes legales, según cada situación, la firma de un formulario de consentimiento informado redactado para tal fin (Anexo II). El paciente ha podido revocar en cualquier momento de su evolución el consentimiento a participar en el estudio y a la utilización de sus datos, sin que haya significado un perjuicio para el mismo. El estudio se realizó de conformidad con la Declaración de Helsinki, las Buenas Prácticas Clínicas y todas las leyes y reglamentos aplicables.

La confidencialidad de los datos de cada paciente ha sido respetada en todo momento. Los datos originales son conservados en el hospital y sólo tienen acceso los investigadores del estudio y la/s persona/s encargada/s de su monitorización, o en caso de inspección por parte de las Autoridades Sanitarias Españolas.

Los pacientes del estudio han sido identificados mediante un código. El investigador ha informado a los pacientes incluidos en el estudio que los datos obtenidos son guardados y analizados por ordenador y que se seguirán las

regulaciones españolas sobre el manejo de datos computarizados (L.O. 15/1999, de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal).

El investigador es la única persona que puede y debe conocer el origen de las muestras o datos recogidos y asociarlos al paciente.

3.2 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se diseñó un estudio prospectivo, observacional, unicéntrico, de una cohorte de pacientes consecutivos diagnosticados de sepsis o shock séptico y lesión renal aguda con o sin necesidad de terapia continua de depuración extrarrenal como soporte orgánico para responder a los objetivos del trabajo.

3.3 PACIENTES

3.3.1 Criterios de Inclusión

Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años, diagnosticados de Sepsis o shock séptico y Lesión renal aguda (LRA) con o sin necesidad de Técnicas Continuas de Depuración Extrarrenal (TCDE).

3.3.2 Criterios de Exclusión

Se excluyeron todos los pacientes con:

- Antecedentes de enfermedad renal crónica en programa de diálisis o pre-diálisis.
- Inmunodeprimidos, incluyendo trasplantados, infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, en tratamiento con inmunosupresores abarcando corticoides orales o iv, cirrosis en estadio *Child-Pugh C* y fallo hepático agudo.
- Cáncer activo y/o metastásico.
- Neoplasia hematológica activa.
- Riesgo de muerte inminente (< 24 h).
- Enfermedad terminal.

- Mujeres embarazadas.
- No consentimiento.

3.3.3 Periodo de observación

Desde el momento de inclusión hasta el alta hospitalaria. No se llevó a cabo ninguna visita posterior.

3.3.4 Criterios diagnósticos de la patología de estudio

Definición de Shock séptico y sepsis

Se utilizan las definiciones del 3º Consenso Internacional publicadas en 2016 (1)

- Shock séptico: sepsis con afectación a nivel celular y circulatoria lo bastante profunda para aumentar la mortalidad. Estos pacientes pueden ser identificados ante un cuadro de sepsis con hipotensión arterial persistente que requiere la administración de vasopresores para mantener una PAM \geq 65 mmHg con un nivel de lactato $>$ 2 mmol/L a pesar de una adecuada resucitación con volumen.
- Sepsis: disfunción orgánica causada por una respuesta inmune desregulada a una infección.
- Disfunción orgánica: identificada como un cambio \geq 2 puntos en la escala SOFA debido a una infección. La puntuación SOFA basal puede ser asumida como cero en pacientes en los que no se conoce una disfunción orgánica previa.

Definición de Lesión Renal Aguda

Se realizará según los criterios KDIGO[103] y se define como:

- Aumento de la creatinina igual o superior a 0,3 mg/dL en 48 h o
- Aumento de la creatinina 1,5 veces su valor basal en los últimos 7 días o
- Volumen urinario $<$ 0,5 ml/kg/h durante 6 horas

Además, según su gravedad se clasifica en diferentes estadios (Tabla 2):

Tabla 2. Etapas de la lesión renal aguda. Adaptada de Khwaja (101)

Etapas	Creatinina sérica	Volumen Urinario
1	1,5-1,9 veces la creatinina basal o $\geq 0,3$ mg/dL	$< 0,5$ ml/kg/h durante 6-12 h
2	2-2,9 veces la creatinina basal	$< 0,5$ ml/kg/h ≥ 12 h
3	3 veces la creatinina basal o Creatinina ≥ 4 mg/dL o inicio de TCDE	$< 0,3$ ml/kg/h ≥ 24 h o anuria ≥ 12 h

h: hora; mg/dL: miligramos decilitro; ml/kg/h: mililitros por kilogramo y por hora; TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

3.3.5 Técnicas Continuas de Depuración Extrarrenal

Se aplicaron con el monitor de Fresenius Medical Care® “multifiltrate” eligiendo la modalidad según el protocolo de la unidad, las características de cada paciente y el criterio del médico responsable, bien HDFVVC, HDVVC o HDVVC. La dosis de tratamiento inicial administrada fue de 30-35 ml/Kg/h y posteriormente, se ajustaba de manera dinámica según las necesidades de cada paciente. El flujo de sangre se ajustó en función del hematocrito de cada paciente y la fracción de filtración deseada que en todos los casos tenía que ser inferior al 25%. Para mantener el circuito permeable se utilizó en primer lugar la heparina sódica como anticoagulante de elección, si no existían contraindicaciones absolutas para su uso, en cuyo caso se podía utilizar como segunda opción el citrato trisódico como anticoagulación regional. Este último, se podía elegir si se coagulaban dos circuitos en menos de 24 h con el uso de la heparina sódica o si bien el paciente presentaba riesgo elevado de hemorragia.

Al emplear la heparina sódica como anticoagulante, se podía indicar HDFVVC, HFVVC o HDVVC, utilizando un dializador constituido por una membrana sintética de alta biocompatibilidad, alta permeabilidad, de polisulfona, con una superficie $1,4$ m² (Ultraflux AV600S® de Fresenius Medical Care®) que permite eliminar moléculas con PM de hasta 30 kD y como líquidos de diálisis y reposición

una solución amortiguada con bicarbonato, estéril, con un volumen de 5 L con cámaras separadas por sello térmico con barrera de gases para evitar cambios de composición, con las siguientes características: sodio 140 mmol/L; calcio 1,5 mmol/L; potasio 3 mmol/L; magnesio 0,5 mmol/L; cloruro 112 mmol/L; bicarbonato 35 mmol/L, glucosa 5,5 mmol/L (multibic 3 mmol/L potasium® de Fresenius Medical Care®).

Si se utilizaba como anticoagulante el citrato trisódico (Sodium Citrate 4% w/v safe lock® de Fresenius Medical Care®), se indicaba HDVVC siendo el dializador empleado una membrana de polisulfona, biocompatible, de alta permeabilidad con una superficie de 1,8 m² (Ultraflux EMIc2® de Fresenius Medical Care®), que permite eliminar moléculas con un PM de hasta 40 kD. Como líquido de diálisis se empleaba una solución estéril con un volumen de 5L con la siguiente composición: sodio 133 mmol/L; calcio 0 mmol/L; potasio 4 mmol/L; magnesio 1 mmol/L; cloruro 117 mmol/L; bicarbonato 20 mmol/L, fosfato 1,25 mmol/L, glucosa 1 g/L (Ci-Ca Dialysate K4 Plus® de Fresenius Medical Care®).

Los catéteres utilizados eran Duo-Flow® de Medcomp® indicados para acceso vascular temporal, fabricados de material termosensible y biocompatible, con un grosor y una longitud de 13 x 15 cm curvados si se insertaban en yugular derecha y 13 x 20 cm o 13 x 25 cm rectos en femorales.

3.3.6 Variables recogidas

Se han recogido variables demográficas, clínicas, analíticas, índices pronósticos (APACHE II, SAPS 3) y escalas de gravedad (SOFA) de los pacientes al ingreso y en distintos momentos evolutivos (a las 12, 24 y 72 h). Algunas variables relacionadas con la respuesta inflamatoria se han recogido diariamente, al igual que la escala SOFA.

Las proteínas identificadas en plasma y en el ultrafiltrado constituyen la variable independiente analizada mientras que la evolución de la respuesta inflamatoria sistémica será la variable dependiente analizada, que se evaluará mediante las siguientes variables resultado: la mortalidad a los 30 días, la evolución de la disfunción orgánica medida mediante la escala SOFA y el delta SOFA al 3º día (puntuación SOFA 3º día menos puntuación SOFA al ingreso por 100 dividido por

la puntuación SOFA al tercer día), 5º y 7º día , la sobreinfección nosocomial y parámetros bioquímicos como la Proteína C Reactiva (PCR), linfocitos, neutrófilos, cociente neutrófilos/linfocitos (NLR), y procalcitonina (PCT)

La escala SOFA es un sistema de puntuación que mide la extensión de la disfunción orgánica o la tasa de fracaso orgánico. Evalúa seis sistemas: respiratorio, cardiovascular, renal, hepático, neurológico y coagulación (22). La puntuación media predice el pronóstico, de tal manera, un puntaje menor de 9 predice una mortalidad del 33 % y si es superior a 11 puntos, la mortalidad puede estar cerca o superar el 95% (Tabla 1)

El APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Disease Classification System II*) es un sistema de clasificación de la gravedad de la enfermedad, que utiliza un puntaje basado en los valores iniciales de 12 mediciones fisiológicas rutinarias, edad y estado de salud previo para proporcionar una medida general de la gravedad de la enfermedad (Anexo III). Un puntaje creciente (rango de 0 a 71) se ha relacionado con el riesgo de muerte hospitalaria en un estudio realizado en 5.815 pacientes ingresados en UCI de 13 hospitales. Cuando las puntuaciones de APACHE II se combinan con una descripción precisa de la enfermedad, puede estratificar a pacientes graves desde el punto de vista pronóstico y ayudar a los investigadores a comparar el éxito de nuevas o diferentes formas de terapia. Este índice de puntuación se puede utilizar para evaluar el uso de recursos hospitalarios y comparar la eficacia de la atención intensiva en diferentes hospitales o en el tiempo [104].

El SAPS 3 (*Simplified Acute Physiology Score 3*) es un modelo de evaluación de la gravedad y pronóstico vital de los enfermos que ingresan en una UCI. Este sistema de puntuación se basó en el estudio prospectivo de una cohorte multinacional de 16.784 pacientes ingresados en UCI y que eran evaluados en su situación previa, en la causa y tipo de patología que había ocasionado el ingreso, y su estado fisiológico en la primera hora de estancia en la UCI. Las variables finales se escogieron por validación cruzada de los datos, y regresión logística, dando a cada una de las variables un peso en el pronóstico final (Anexo IV). La discriminación del modelo final fue buena, por lo que se considera que la escala

permite predecir el pronóstico vital del paciente, con datos obtenidos en la primera hora tras el ingreso [105].

La infección nosocomial se define como la infección adquirida durante la estancia en un hospital y que no estaba presente ni en periodo de incubación en el momento de ingreso del paciente. Las infecciones que ocurren a partir de las 48 h del ingreso suelen considerarse nosocomiales. En general, están relacionadas con procedimientos asistenciales invasivos entre las que se encuentran la infección urinaria relacionada con sonda uretral, la neumonía relacionada con ventilación mecánica, la bacteriemia relacionada con catéter vascular y la infección quirúrgica relacionada con el procedimiento quirúrgico. Sin embargo, no solamente los procedimientos invasivos juegan un papel importante en el desarrollo de las mismas, sino que el papel del huésped es evidentemente muy relevante.

Se recogen los días de estancia en UCI y hospital, así como el número y porcentaje de pacientes que precisan soporte orgánico como VMI, TCDE, ECMO y vasopresores.

Se obtienen variables clínicas y bioquímicas al ingreso y en distintos momentos evolutivos, destacando: Frecuencia cardiaca (FC) expresada en latidos por minuto (lpm), Frecuencia respiratoria (FR) en respiraciones por minuto (rpm), Presión arterial media (PAM) en milímetros de mercurio (mmHg), Temperatura (T^a) en grados centígrados (C), pH, urea y creatinina en mg/dL, hemoglobina en g/dL, leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$), linfocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$), cociente Neutrófilos/Linfocitos (NLR), Calcio iónico (Ca_i^{2+}) en mg/dL, Sodio, Potasio y Cloro (Na^+ , K^+ , Cl^- respectivamente) en mEq/L, Lactato en mmol/L, Triglicéridos y Colesterol en mg/dL, Vitamina D en ng/mL, Magnesio (Mg) y Fósforo (P) en mg/dL, PCR en mg/L, Poblaciones linfocitarias en % y en células/ μL .

Se recogen las complicaciones atribuidas a las TCDE como hipotermia ($T^a < 35^\circ\text{C}$), alteraciones electrolíticas, hipoproteinemia (proteínas totales en g/dL) y hemorragias.

Se registran las siguiente covariables: edad del paciente en años, sexo, peso en kg, talla en cm y el Índice de Masa Corporal (IMC). Además de antecedentes como diabetes mellitus, Hipertensión arterial (HTA), uso de estatinas previas,

IECAS (inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina) y diuréticos, etiología de la sepsis o shock séptico (foco respiratorio, abdominal, neurológico, urinario, vascular, otros), si es de origen comunitario o nosocomial y los tratamientos administrados durante el proceso como hidrocortisona, Ventilación mecánica invasiva (VMI) y no invasiva (VMNI), ECMO (Membrana de oxigenación extracorpórea) y noradrenalina.

3.4 MUESTRAS A ESTUDIO

3.4.1 Muestras de Sangre

Las muestras de sangre se han recogido de una vía venosa ya canalizada, con un tubo de extracción venosa con sistema tipo *vacutainer* con anticoagulante EDTA K3 (ácido etilendiaminotetraacético en forma de sal tripotásica) y sin gel. Inmediatamente tras la extracción, se han centrifugado durante 30 min en la centrifuga disponible en la UCI (modelo *ependorf centrifuge 5702*) la cual dispone de los adaptadores adecuados para el tipo de recolección utilizada, a 2.000 rpm durante 10 min. El sobrenadante resultante o plasma, se ha alicuotado, utilizando una pipeta estéril, en fracciones de 0,2 ml en viales de criocongelación adecuados debidamente etiquetados y con sellado correcto de los mismos para conseguir un cierre hermético. Los microviales se han depositado en gradillas de criocalmacenaje y conservados en un ultracongelador de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ con sistema de registro de T^{a} y sistema de mantenimiento de la misma en caso de corte eléctrico, hasta el momento de su análisis (*New Brunswick Scientific Ultra Low Temperatura Freezer V 410 Premium*). Se recogen muestras en distintos tiempos evolutivos, al ingreso (T0), a las 12 h (T1), a las 24 h (T2) y al 3º d (T3) (Figura 11).

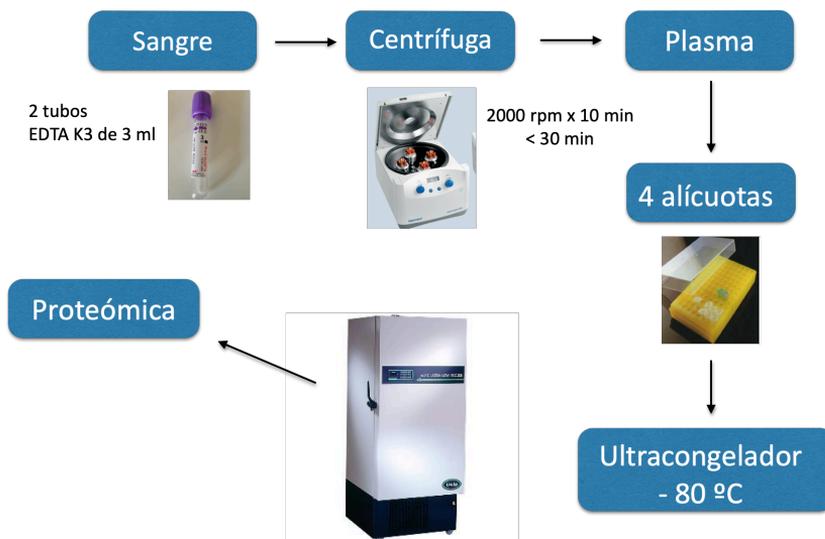


Figura 11. Procesamiento de las muestras de sangre

3.4.2 Muestras de Efluente

Las muestras de ultrafiltrado se han recogido en tubos estériles de 10 ml. Se han alicuotado en tubos de criocongelación de 2 ml, etiquetado y almacenado en gradillas de congelación en el ultracongelador de - 80 C hasta su análisis (*New Brunswick Scientific Ultra Low Temperatura Freezer V 410 Premium*). Se han recogido muestras a las 12 h (T1) de la conexión, a las 24 h (T2) y al 3º d (T3) (Figura 12).

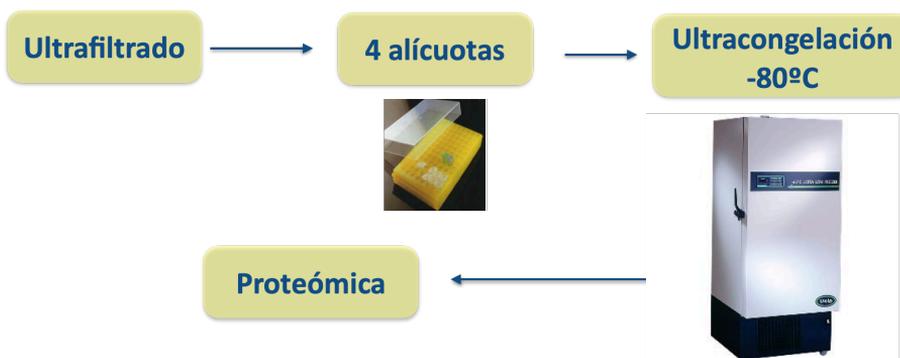


Figura 12. Procesamiento de las muestras de Efluente

Se han recogido muestras de sangre de todos los pacientes diagnosticados de sepsis y shock séptico que cumplieran los criterios de inclusión y en aquellos con lesión renal aguda con requerimientos de TCDE, se han recogido muestras de UF simultáneamente a las plasmáticas en los distintos momentos evolutivos (Figura 13).

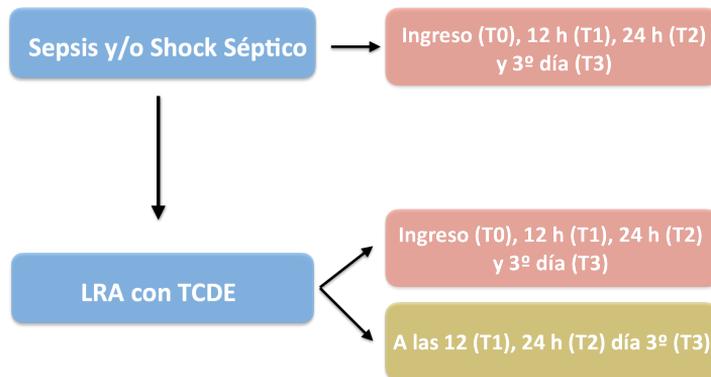


Figura 13. Tiempos de extracción de las muestras

(T0: Diagnóstico/Ingreso. T1: 12 horas. T2: 24 horas. T3: 3º día).
En color rosa y dorado se indican las extracciones de sangre y ultrafiltrado respectivamente

3.5 TÉCNICAS PROTEÓMICAS

Uno de los principales problemas al aplicar las técnicas de proteómica a las muestras de plasma es el alto contenido de albúmina y otras proteínas que enmascaran la presencia de proteínas menos abundantes y por ello hay que preparar las muestras.

3.5.1 Preparación de las muestras

Muestras de Plasma

Para aumentar la cobertura del proteoma plasmático, en primer lugar, se procedió a la depleción de las catorce proteínas más abundantes del plasma (albúmina humana, IgG, antitripsina, IgA, transferrina, haptoglobina, fibrinógeno, α 2-macroglobulina, α 1-ácido glicoproteína, IgM, apolipoproteína

AI, apolipoproteína AII, complemento C3 y transtiretina) con una columna comercial diseñada para esta finalidad (*Human 14 Multiple Affinity Removal System (MARS) (4 x 100 mm, Hu-14) de Agilent*). El procedimiento de depleción se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante. Las fracciones correspondientes al plasma deplecionado se congelaron a -80 °C hasta su utilización.

Las muestras de plasma deplecionado se evaporaron parcialmente (*Speed Vac, Thermo Scientific*) y se ajustaron a 100 µL con H₂O (milliQ). Seguidamente se realizó una precipitación ácida de las proteínas añadiendo 10 µL de TCA frío (4 °C) que, tras agitación vigorosa se dejó a 4 °C toda la noche. Posteriormente, las muestras se centrifugaron (20 min a 14.000 g y 4 °C) y los precipitados se lavaron con 100 µL de acetona fría (-20 °C) con agitación vigorosa y de nuevo se centrifugan (20 min a 14.000 g y 4 °C). Los nuevos precipitados se secaron al aire y se resuspendieron en 22 µL de bicarbonato amónico 0,5 M (BA) con agitación vigorosa. Para cuantificar las muestras, se analizaron 2 µL de cada solución mediante el método fluorescente Qubit (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Muestras de Ultrafiltrado o Efluente

Alícuotas de 400 µl de ultrafiltrado se secaron en un *Speed Vac (Thermo Scientific)* y se resuspendieron con 200 µL de tampón 4 M de urea y 0,25 M de trietilamonio. Se determinó la concentración de proteína mediante una modificación del método de Bradford [106] y se congelaron a -20 °C hasta su utilización.

Preparación de muestras para su análisis por espectrometría de masas

Antes del análisis por espectrometría de masas, las muestras se someten a una electroforesis de SDS/PAGE. Además de las muestras individuales de plasma deplecionado y ultrafiltrado, se generaron muestras conjuntas de ambos tipos de muestra mediante la combinación, a partes iguales, de todas las muestras disponibles. Las muestras conjuntas de plasma deplecionado y ultrafiltrado se procesan como las muestras individuales de cada tipo.

Se tomaron alícuotas de 50 μg de proteína de plasma deplecionado y se les añadió el volumen adecuado de tampón concentrado (4x) de carga de Laemmli con β -mercaptoetanol. En el caso de las muestras de ultrafiltrado, tras secarse de nuevo se resuspendieron en tampón de carga de Laemmli. Una vez que las muestras estuvieron en tampón de carga se desnaturalizaron calentando a 95 $^{\circ}\text{C}$ durante 5 min. Alícuotas de 50 μg de proteína se cargaron en geles de poliacrilamida AnyKD (Bio-Rad). El desarrollo de la electroforesis fue distinto para las muestras individuales y para las conjuntas. En el caso de las muestras individuales, cuyo objetivo era la inclusión de la muestra en el gel en una banda única, la electroforesis se desarrolló durante 20 min a 200 V justo para permitir la entrada de la muestra en el gel. Por el contrario, el objetivo de las muestras conjuntas era la construcción de las librerías de espectros y, por tanto, las proteínas se resolvieron completamente. Así, la electroforesis se desarrolló a 200 V hasta que el colorante salió por el frente. Los geles se fijaron (1 h en 40 % etanol:10 % ácido acético), se tiñeron (1 h en Coomassie coloidal de Bio-Rad) y se destiñeron (en H_2O milliQ). De las carreras de las muestras individuales se escindió una única banda que incluyó el total de proteínas de la muestra. Por el contrario, las carreras de las muestras conjuntas se dividieron en 4 (ultrafiltrado) ó 10 (plasma deplecionado) secciones (Figura 14) con una cantidad similar de proteína estimada a partir de su perfil densitométrico. Cada uno de los fragmentos de gel se procesó y digirió como se indica a continuación.

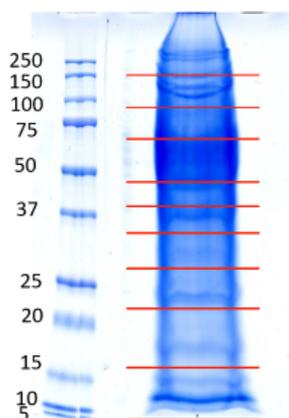


Figura 14. Gel de electroforesis de las muestras conjuntas de plasma.

Digestión de las muestras

Para la digestión de las muestras en gel, se utiliza el protocolo descrito por Shevchenko y col. (106). Brevemente, las muestras se redujeron con 2 mM ditioneitol (DTT), 50 mM Bicarbonato Amónico, durante 20 min a 60 °C y, posteriormente, se alquilaron con 5,5 mM iodoacetamida en el mismo tampón, durante 30 min a temperatura ambiente. Se añadió la solución de tripsina (relación 1:50 tripsina: proteína) y se incubó a 37 °C toda la noche. La digestión se detuvo con ácido trifluoroacético (TFA) a una concentración final del 1 %.

Las mezclas de digestión se secaron en una centrífuga a vacío y se resuspendieron en 20 µL de acetonitrilo (ACN) 2 %, TFA 0,1 %.

3.5.2 Análisis por espectrometría de masas (LC-MS/MS)

Generación de las librerías peptídicas/análisis mediante adquisición dependiente de datos.

Con objeto de identificar el mayor número de proteínas utilizamos un procedimiento tipo *shotgun* de adquisición dependiente de datos (DDA). Para ello, los péptidos obtenidos de la digestión de las muestras se someten a una separación en cromatografía de fase reversa (NanoLC-Ultra-1D Plus/AS-2 de Eksigent Technologies, SCIEX) acoplada a un espectrómetro de masas (nanoESI qTOF 5600 TripleTOF de SCIEX).

Se cargaron 2,5 µg de péptidos de cada muestra en una columna trampa (NanoLC, 3 µm C18-CL; Eksigent Technologies) y se desalaron con 0,1% TFA a un flujo de 3 µL/min durante 5 min. A continuación, los péptidos retenidos en la trampa, se cargaron en una columna analítica (columna LC, 3 µm C18-CL, 75 µm x 12 cm, Nikkyo) equilibrada con 5% acetonitrilo (ACN) en 0,1% ácido fórmico (AF). La elución de los péptidos se llevó a cabo con un gradiente lineal de 5 a 35 % B en A, 60 min (A: 0,1% AF; B: ACN, 0,1% AF) para un caudal de 300 nL/min.

Los péptidos eluidos se analizaron en el espectrómetro de masas aplicando 2,8 kV al emisor del electrospray para su ionización. El análisis se llevó a cabo en modo DDA. Los escaneos MS1 se adquirieron desde 350 hasta 1250 m/z durante 250 ms. La resolución del cuadrúpolo se estableció en 'UNIT' para los espectros de MS2, que fueron adquiridos desde 100 hasta 1500 m/z durante 150 ms en

modo "alta sensibilidad". Los criterios de conmutación utilizados fueron: carga: iones con carga 2+ a 5+; intensidad mínima de 70 cuentas por segundo. Se seleccionaron hasta 25 iones para la fragmentación después de cada escaneo MS1. La exclusión dinámica se fijó en 15 s.

La sensibilidad del sistema se controló con 2 fmol del estándar de LC Packings.

Análisis cuantitativo SWATH mediante adquisición independiente de datos.

Para este análisis se utilizó el mismo instrumento que en el análisis anterior, pero trabajando en modo de adquisición independiente de datos (DIA).

Se cargaron 2 µg en el mismo sistema cromatográfico y funcionando bajo las mismas condiciones indicadas anteriormente.

Los péptidos eluidos fueron analizados en el mismo espectrómetro de masas, pero la adquisición de datos se llevó a cabo en modo DIA-SWATH [108] realizando un escaneo MS1 de 50 ms desde 350 hasta 1250 m/z, seguido de escaneos MS2 de 80 ms desde 350 hasta 1250 m/z en 37 ventanas de 15 Da cubriendo un rango de m/z entre 450 hasta 1000. La duración total del ciclo es de 3,05 segundos.

3.5.3 Análisis de datos de espectrometría de masas

Identificación de proteínas

Para la identificación de las proteínas, los ficheros wiff del análisis LC-MS/MS operado en modo DDA se analizaron con el programa **Protein Pilot™** (versión 5.0.2, SCIEX).

El algoritmo *Paragon* [109] de Protein Pilot se utilizó para buscar en la base de datos SwissProt (versión 03-2018; 556.819 proteínas totales) con los siguientes parámetros: especificidad de tripsina, carbamidometilación de cisteínas, taxonomía no restringida, esfuerzo de búsqueda establecido en el máximo y análisis FDR (*False Discovery Rate*).

La agrupación de proteínas se realizó mediante el algoritmo *Pro group*. Las proteínas que obtuvieron un valor de *Unused score* >1,3 se identificaron con una

confianza ≥ 96 %. Los péptidos identificados con una confianza superior al 95% se utilizaron para generar la librería de espectros.

Cuantificación de proteínas

Los archivos wiff obtenidos del experimento SWATH fueron analizados con **Peak View**[®] versión 2.1 (SCIEX) utilizando los datos de la librería generada en el análisis DDA. Para el análisis cuantitativo se utilizaron los siguientes ajustes de procesamiento: número de péptidos por proteína= 100, número de transiciones por péptido= 6, umbral de confianza de péptidos= 95 %, umbral de FDR= 1 %, excluir péptidos modificados activos, excluir péptidos compartidos activos, ventana de extracción XIC (min)= 10 y anchura XIC (ppm)= 20. Los tiempos de retención de los péptidos así detectados se alienaron utilizando algunos de los péptidos detectados de alta confianza.

El valor cuantitativo de cada proteína corresponde a la suma de las áreas cromatográficas de los 6 fragmentos (transiciones) de todos los péptidos asignados a la proteína. Los datos de SWATH proporcionados por Peak View fueron normalizados por la mediana de cada muestra y transformados a escala logarítmica en base dos. Los datos normalizados y transformados se exportaron para su análisis estadístico.

3.5.4 Análisis de datos

Análisis de los datos clínicos y analíticos de los Pacientes

Se analizan los datos tanto demográficos, clínicos y bioquímicos de los 18 pacientes incluidos en el estudio. Se comparan dos grupos de pacientes, los sometidos a TCDE y los que no las precisan a pesar de su LRA.

Análisis estadísticos de los datos cuantitativos.

Con objeto de reducir la variabilidad y aumentar la reproducibilidad en el análisis diferencial se utilizaron únicamente las proteínas cuantificadas con 3 o más péptidos. Asimismo, se eliminan en este análisis 3 pacientes que presentaban disfunción renal aguda por criterios de débito urinario y no por elevación de creatinina para que los pacientes fuesen más homogéneos en este sentido.

Del total de muestras (pacientes y tiempos) analizadas, se observó la existencia de un reducido número de muestras en los que la intensidad de señal fue anormalmente baja. Incluso después de la normalización, los datos cuantitativos obtenidos de estas muestras mostraron una localización diferenciada (*outliers*) en un análisis de componentes principales. Por tanto, estas muestras fueron eliminadas de los análisis posteriores. El resto de muestras generaron una matriz completa de datos cuantitativos que no requirió el empleo de técnicas de sustitución de ausentes. Así, los análisis se han realizado sobre esta matriz de datos SWATH. Todas las variables recopiladas se han descrito en el total de pacientes evaluables y en los subgrupos pertinentes.

Análisis Bioinformático Funcional.

Para obtener información funcional de las proteínas de interés se han utilizados distintas herramientas bioinformáticas de libre acceso disponibles en internet.

STRING (*Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins*)

Es una base de datos biológica y recurso web de interacciones proteína-proteína conocidas y predichas (<https://string-db.org>). Realmente, proporciona una valiosa información sobre relaciones funcionales de las proteínas. La base de datos STRING contiene información de numerosas fuentes, incluidos datos experimentales, métodos de predicción computacional y colecciones de textos públicos. Además del análisis funcional, esta herramienta también realiza análisis de enriquecimiento de los términos incluidos en sus bases de datos. La versión 11b, la última disponible, es la que se ha utilizado en este trabajo. STRING ha sido desarrollado por un consorcio de instituciones académicas como CPR, EMBL, KU, SIB, TUD y UZH [110].

UniProt (*universal protein*)

Recurso líder a nivel mundial en cuanto al almacenamiento de información sobre proteínas (www.uniprot.org). La mayoría de entradas proviene de proyectos de secuenciación del genoma, y se encuentran publicadas en revistas científicas.

Cuenta con una gran fuente de bases de datos y de servicios bioinformáticos. Destaca por la calidad de la información ya que, además de las anotaciones

bioinformáticas, un gran número de ellas están validadas de forma manual. En 2002, EBI, SIB, y PIR unieron fuerzas en el consorcio UniProt.

DAVID (*Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*)

DAVID es una base de datos para anotación, visualización y descubrimiento integrado que proporciona un conjunto completo de herramientas de anotación funcional para poder comprender el significado biológico detrás de una gran lista de genes. (<https://david.ncicrf.gov>). Su análisis funcional se lleva a cabo utilizando diversas bases de datos. Agrupa las proteínas en clústeres funcionales en los que las proteínas y los términos funcionales se solapan. Además, también realiza análisis de enriquecimiento de cada uno de los términos funcionales [111].

PANTHER

Es una de las herramientas más utilizadas para el análisis funcional basado en los datos de clasificación de genes *Gene Ontology* (GO, <http://www.pantherdb.org>). Se trata de una clasificación jerárquica de los datos funcionales de los genes. La información se divide en tres grandes áreas: procesos biológicos, funciones moleculares y componente celular. Permite, de una manera rápida, obtener una información general acerca de los principales aspectos funcionales y de localización celular de los grupos de proteínas de interés [112].

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos se han realizado utilizando R v.4.0.2 ("R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>").

Al tratarse de un estudio piloto se calculó la potencia asociada al tamaño muestral recogido.

El análisis estadístico se ha planteado de la siguiente manera:

En primer lugar, se analizan las variables demográficas, clínicas, analíticas y evolutivas recogidas de los pacientes incluidos en el estudio. Para cada una de las variables se ha realizado un análisis descriptivo global y de los subgrupos considerados (NoTCDE vs TCDE) para ver si existían diferencias significativas

entre ellos. Dependiendo de si la variable respuesta era cuantitativa o cualitativa utilizamos un test u otro. Toda esta información se presentará en tablas o en gráficos.

En el caso de variables continuas se aplicó el t-test, tras comprobar que se cumplían las condiciones de aplicabilidad: independencia, normalidad y homocedasticidad.

- Independencia: se cumple puesto que la muestra proviene de distintos pacientes.
- Normalidad: se comprueba utilizando el test *Shapiro-Wilks*. Si no se verifica, usaremos test no paramétricos basados en comparar la mediana de los grupos.
- Homocedasticidad: existen diferentes test para evaluarlo. El test a utilizar dependerá de si se cumple o no la normalidad. Inicialmente trabajaremos con el test de *Bartlett*. Cuando no se cumpla la homocedasticidad, pero sí la normalidad, utilizaremos el t-test corregido por *Welch* (función `oneway.test` de R). Si no se cumple la normalidad, se utiliza el test de *Levene* para la mediana o el test de *Fligner-Killeen* si son estadísticos no paramétricos.

En las variables categóricas, utilizamos el test exacto de *Fisher* por ser más adecuado cuando se trabaja con pocos datos y la variable cualitativa tiene dos niveles de respuesta. Se considera una relación estadísticamente significativa cuando el p-valor obtenido es $< 0,05$. La potencia se calcula mediante el programa G*Power (<http://www.gpower.hhu.de/>) para un nivel de significatividad del 0,05 y suponiendo un tamaño del efecto grande (0,8 para continuas y 0,5 para categóricas), según las tablas propuestas por *Cohen*. Para las variables continuas estamos en un 49 % aproximadamente y para las variables categóricas entre un 46 % y 56 %, dependiendo si tenemos uno o dos grados de libertad. Para las variables analíticas, al tratarse de datos tomados en distintos momentos evolutivos, se utiliza un ANOVA para 3 medidas repetidas; para un tamaño muestral de 18 y un tamaño del efecto grande de 0,4, la potencia obtenida es de 49,7 %.

En segundo lugar, se realizó la cuantificación de las proteínas mediante la técnica proteómica SWATH con la transformación y normalización de los datos indicadas anteriormente. El primer problema al que nos enfrentamos es decidir qué

modelos estadísticos utilizar para identificar las proteínas que nos van a diferenciar los grupos de estudio considerados. La contrariedad viene porque el número de variables de interés que tenemos (las proteínas) es mucho mayor al número de observaciones que disponemos. En estas condiciones, utilizar los modelos clásicos como el t-test o el ANOVA plantea nuevos problemas: se aumenta el error de tipo I o el error de tipo II (al intentar reducir el error de tipo I) y no disponemos de los suficientes grados de libertad para poder estimar los parámetros del modelo.

Entre los métodos más adecuados para resolver este tipo de situaciones tenemos los modelos de regresión con penalización (Lasso o Elastic Net) y los métodos de proyección o de reducción de dimensión. Utilizaremos las dos metodologías para observar si llegamos a resultados similares por ambas vías.

El modelo de regresión con penalización actúa como una metodología de selección de variables. La penalización Lasso tiene el efecto de forzar a cero algunos de los coeficientes estimados en la regresión, lo que hace mucho más fácil interpretar el modelo generado. La penalización Elastic Net no es tan restrictiva como Lasso y es más adecuada cuando las variables explicativas que tenemos en el estudio están correlacionadas, como es el caso de las proteínas. En esta metodología es fundamental la elección del parámetro λ . Para ello utilizaremos validación cruzada implementada en el paquete de R utilizado, "glmnet" v. 4.1-1. [113]

Por otro lado, hemos utilizado metodología de proyección o reducción de dimensión para hacer clasificación con las muestras a partir de la cuantificación de las proteínas y así poder discriminar. La reducción de dimensión permite disminuir el número de variables aleatorias consideradas mediante la obtención de un conjunto de variables principales. Realizamos un Análisis de componentes principales o PCA (del inglés, *Principal Component Analysis*), un análisis factorial que intenta identificar una serie de variables (predictoras) o factores subyacentes a los datos obtenidos denominados componentes principales (PC, del inglés, *Principal Component*), que expliquen la mayor parte de la varianza observada para el mayor número posible de variables medidas, y no muestren correlación entre ellas, es decir, recogen distinta "parte" de la información

contenida en las variables originales. De esta manera, el PCA permite reducir un número elevado de variables a unos pocos factores para establecer diferencias entre los grupos de población.

La elección de componentes también puede realizarse por mínimos cuadrados parciales o PLS (por sus siglas en inglés *Partial Least Squares*) que clasificará las muestras en una serie de grupos previamente establecidos, permitiendo pronosticar el grupo de pertenencia de una muestra particular a partir de las características observadas. El PLS combinado con Análisis Discriminante (PLS-DA) se utiliza cuando la variable respuesta es cualitativa. Por tanto, PLS-DA es un modelo de clasificación lineal que permite predecir la clase de nuevas muestras y el sPLS-DA (del inglés *sparse Partial Least Squares-Discriminant Analysis*) permite la selección de las características más predictivas o discriminatorias en los datos que ayudan a clasificar las muestras [114]

El paquete de R utilizado es mixOmics: Omics Data Integration Project. R package version 6.12.2. (<https://CRAN.R-project.org/package=mixOmics>)

Para ambas metodologías, la relación entre muestras y proteínas se representa gráficamente, utilizando mapas de calor (*heatmaps*) como un método eficiente de visualizar conjuntos de datos complejos organizados como matrices [115]. El paquete de R utilizado para la representación de los datos es el “NMF” v.0.23.0. En el contexto biológico, tal matriz se crea organizando los datos de una manera que cada columna contiene la información de una sola muestra y cada fila corresponde a una sola característica (proteína). Los mapas de calor permiten encontrar patrones cuantitativos a través de proteínas y muestras biológicas simultáneamente. Tanto las muestras como las proteínas se representan en orden según el resultado de la clasificación jerárquica.

En tercer y último lugar se relacionan las variables clínicas y analíticas de interés con las proteínas identificadas mediante la técnica de cuantificación SWATH.

El modelo de regresión se realiza con dos objetivos: por un lado, encontrar un modelo que explique la relación existente entre las variables explicativas y la variable respuesta y, por otro lado, hacer predicciones sobre la variable respuesta para nuevos valores de las variables explicativas, en nuestro caso las proteínas seleccionadas.

Se han utilizado los datos clínicos y proteómicos de muestras obtenidas a lo largo del tiempo, eliminando 13 muestras porque la intensidad de señal obtenida en el espectrómetro de masas fue demasiado débil y no permitió cuantificar todas las proteínas. La selección de las proteínas con mayor influencia en los parámetros estudiados se realizó mediante un análisis de regresión múltiple con penalización Lasso. Además, hemos estudiado si existe correlación entre las variables seleccionadas y quedarnos únicamente con aquellas que son significativas según el test de Pearson.

La magnitud de la penalización se ajustó hasta obtener una correlación entre los datos experimentales y los teóricos cercana a 0,8 (medida por el coeficiente de Pearson) para evitar el sobreajuste de los datos. Por último, se llevó a cabo un análisis de regresión lineal múltiple sin penalización utilizando únicamente las proteínas seleccionadas. En el análisis de los datos de PCT solo se utilizaron las muestras con valores de calcitonina inferiores a 100 ng/mL. Este es el valor máximo de las determinaciones y, por tanto, no es posible obtener medidas fiables de este parámetro por encima de este valor.

Se ha planteado el modelo de predicción con los datos que tenemos ya que disponemos de pocas muestras. En un futuro validaremos nuestro modelo predictivo con nuevas muestras cuantificadas.

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS PACIENTES

Se estudiaron 18 pacientes consecutivos que cumplían los criterios de inclusión durante 1 año (junio 2016 a junio 2017) ingresados en la UCI del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de València. Estos pacientes fueron divididos en dos grupos:

- 1) Grupo NoTCDE (pacientes con sepsis o shock séptico con LRA que no precisaron TCDE).
- 2) Grupo TCDE (pacientes con sepsis o shock séptico con LRA y necesidad de TCDE).

4.1.1 Variables demográficas, clínicas y evolutivas

En la Tabla 3 se describen las características demográficas y clínicas de la población estudiada y se comparan ambos grupos.

Los diagnósticos más frecuentes fueron: dentro del foco respiratorio, 7 pacientes presentaban neumonías (5 adquiridas en la comunidad y 2 nosocomiales) y 1 paciente un absceso faríngeo; dentro del foco abdominal, la mayoría eran colecistitis y colangitis y dentro del foco urinario, 2 pacientes ingresaron por pielonefritis y 1 por infección urinaria. Solo un paciente ingresó por una infección considerada como otro foco, en concreto una osteomielitis.

Se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en lo que respecta a la duración de la VMI, que fue mayor en el grupo TCDE al igual que la duración de la LRA (Tabla 3). Sin embargo, al excluir del análisis al paciente que presentó la estancia más prolongada (73 días) no se observaron diferencias estadísticamente significativas en este parámetro.

Con respecto a la gravedad, se observó que las puntuaciones obtenidas en todas las escalas de gravedad (SOFA) e índices pronósticos (APACHE II y SAPS 3) aplicados al ingreso fueron significativamente superiores en el grupo TCDE, excepto el SOFA_NR y el SOFA_R (Tabla 4). El análisis de la evolución de la puntuación media de las escalas SOFA y SOFA_NR desde el ingreso hasta el décimo día, reveló que los valores fueron más elevados en el grupo TCDE que en el grupo NoTCDE y que la mejoría en ambos grupos acontece a partir de las 24 h

de ingreso, siendo más rápida en el grupo NoTCDE, con diferencias significativas a partir del 7º día (Figura 15).

Con respecto a la mortalidad, el 75% de los fallecimientos ocurrieron antes de los 30 días. La única diferencia significativa entre supervivientes y no supervivientes fue la estancia en la UCI que fue más prolongada en el grupo TCDE (Tabla 4).

En la Tabla 3 se describen las características demográficas y clínicas de la población estudiada y se comparan ambos grupos.

Los diagnósticos más frecuentes fueron: dentro del foco respiratorio, 7 pacientes presentaban neumonías (5 adquiridas en la comunidad y 2 nosocomiales) y 1 paciente un absceso faríngeo; dentro del foco abdominal, la mayoría eran colecistitis y colangitis y dentro del foco urinario, 2 pacientes ingresaron por pielonefritis y 1 por infección urinaria. Solo un paciente ingresó por una infección considerada como otro foco, en concreto una osteomielitis.

Se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en lo que respecta a la duración de la VMI, que fue mayor en el grupo TCDE al igual que la duración de la LRA (Tabla 3). Sin embargo, al excluir del análisis al paciente que presentó la estancia más prolongada (73 días) no se observaron diferencias estadísticamente significativas en este parámetro.

Con respecto a la gravedad, se observó que las puntuaciones obtenidas en todas las escalas de gravedad (SOFA) e índices pronósticos (APACHE II y SAPS 3) aplicados al ingreso fueron significativamente superiores en el grupo TCDE, excepto el SOFA_NR y el SOFA_R (Tabla 4). El análisis de la evolución de la puntuación media de las escalas SOFA y SOFA_NR desde el ingreso hasta el décimo día, reveló que los valores fueron más elevados en el grupo TCDE que en el grupo NoTCDE y que la mejoría en ambos grupos acontece a partir de las 24 h de ingreso, siendo más rápida en el grupo NoTCDE, con diferencias significativas a partir del 7º día (Figura 15).

Con respecto a la mortalidad, el 75% de los fallecimientos ocurrieron antes de los 30 días. La única diferencia significativa entre supervivientes y no supervivientes fue la estancia en la UCI que fue más prolongada en el grupo TCDE (Tabla 4).

Tabla 3. Variables demográficas de los pacientes estudiados.

	Todos (n= 18)	NoTCDE (n= 10)	TCDE (n=8)	p =
Varones: n (%)	14 (77,8)	7 (70)	7 (87,5)	0,59
Edad: años (m, DE)	63,9 (11,3)	66,6 (12,2)	60,5 (9,7)	0,26
Talla (cm)	167,4 (6,5)	167,2 (7,5)	167,6 (5,3)	0,89
Peso (Kg)	75,9 (14,2)	76,7 (14,2)	75 (15,5)	0,81
IMC	26,9 (4,1)	27,4 (4,2)	26,5 (4,2)	0,67
Antecedentes: n (%)				
Diabetes Mellitus	8 (44,4)	4 (40)	4 (50)	1
HTA	8 (44,4)	4 (40)	4 (50)	1
Estatinas	8 (44,4)	5 (50)	3 (37,5)	0,664
IECAS	6 (33,3)	3 (30)	3 (37,5)	1
Diuréticos	4 (22,2)	2 (20)	2 (25)	1
Origen Infección: n (%)				
Comunitario	15 (83,3)	9 (90)	6 (75)	0,56
Foco respiratorio	8 (44,4)	3 (30)	5 (62,5)	0,73
Foco abdominal	6 (33,3)	4 (40)	2 (25)	0,64
Foco urinario	3 (16,7)	3 (30)	0 (0)	0,25
Otros	1 (5,6)	0 (0)	1 (12,5)	1
Procedimientos y terapias soporte: n (%)				
VMNI	4 (22,2)	3 (30)	1 (12,5)	0,56
VMI	10 (55,6)	3 (30)	7 (87,5)	0,02
ECMO	1 (5,6)	0 (0)	1 (12,5)	0,44
Noradrenalina	17 (94,4)	9 (90)	8 (100)	1
Hidrocortisona	8 (44,4)	3 (30)	5 (50)	0,34
LRA				
Estadio 1. n (%)	6 (33,3)	5 (50)	1 (12,5)	0,63
Estadio 2. n (%)	6 (33,3)	3 (30)	3 (37,5)	
Estadio 3. n (%)	6 (33,3)	2 (20)	4 (50)	
Creatinina basal (mg/dL)	2,9 (2,1)	2,2 (0,4)	3,6 (2,7)	0,15
Duración (días) m (DE)	13,7 (23,1)	4,7 (4,1)	22,7 (31,0)	0,04
				0,22*
Evolución ERC	3 (23,1)	1 (10)	2 (25)	1
Evolución del Shock				
Reducción catecolaminas 50%: m días (DE)	2,1 (1,4)	1,8 (1,3)	2,5 (1,6)	0,34
Retirada: m días (DE)	3,7 (2,0)	3,1 (1,8)	4,4 (2,2)	0,22
Normalización lactato: m días (DE)	1,8 (1,9)	1,8 (1,6)	1,9 (2,4)	0,92

Las variables categóricas se expresan en n (número absoluto) y % (porcentaje). Las variables continuas se expresan en media (m) y desviación estándar (DE)

*p= 0, 22 tras retirar el paciente con LRA más prolongada

cm (centímetros), ECMO (oxigenador de membrana extracorpórea), ERC (enfermedad renal crónica), HTA (hipertensión arterial), IECAS (inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina),

IMC (índice masa corporal), kg (kilogramos), LRA (lesión renal aguda), mg/dL (miligramos/decilitros),

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal), VMI (ventilación mecánica invasiva), VMNI (ventilación mecánica no invasiva)

Tabla 4. Características evolutivas y de gravedad de los pacientes agrupados por la necesidad de uso de Terapia Continua de Depuración Extrarrenal (TCDE).

	Todos (n= 18)	NoTCDE (n= 10)	TCDE (n=8)	p =
Sobreinfección nosocomial: n (%)	6 (33,3)	2 (20)	4 (50)	0,32
Estancia UCI: m días (DE)	15,5 (17,2)	7,2 (5,1)	25,9 (21,4)	0,04
Estancia Hospital: m días (DE)	32 (27,9)	21,4 (14,9)	45,2 (37,2)	0,11
Mortalidad global: n (%)	4 (22,2)	1 (10)	3(37,5)	NS
Exitus UCI: n (%)	1 (25)	0 (0)	1 (12,5)	0,44
Exitus Hospital: n (%)	3 (75)	1 (10)	2 (25)	0,56
Gravedad				
APACHE II m (DE)	20,2 (6,4)	16,8 (4,6)	24,5 (5,8)	0,01
SAPS III m (DE)	63,3 (12,9)	56,6 (10,3)	71,7 (11)	0,01
SOFA_ingreso m (DE)	8,7 (2,3)	7,7 (1,7)	10 (2,3)	0,04
SOFA_NR_ingreso m (DE)	6,9 (2,0)	6,5 (1,7)	7,5 (2,3)	0,49
SOFA_R_ingreso m (DE)		1,2 (0,8)	2,5 (1,3)	0,10

Las variables categóricas se expresan en n (número absoluto) y % (porcentaje)

Las variables continuas se expresan en media (m) y desviación estándar (DE)

APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation), NR (No Renal), R (Renal), SAPS (Simplified Acute Physiologic Score), SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*), UCI (Unidad de Cuidados Intensivos)

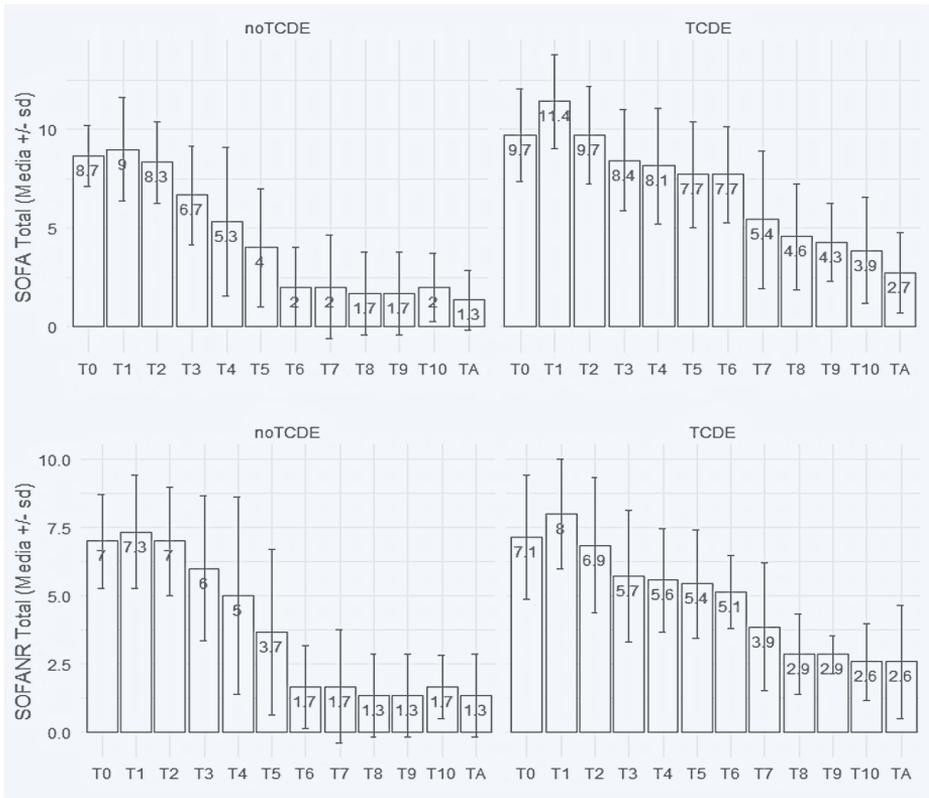


Figura 15. Evolución de la escala SOFA y SOFA_NR en los primeros 10 días de evolución.

NR (No renal), st (desviación estándar), T (día de evolución), TCDE (Técnica continua de depuración extrarrenal), SOFA (*Sequential organ failure assessment*).

El SOFA y el SOFA_NR medio y máximo de ambos grupos se representan en la Figura 16, sin alcanzar diferencias significativas entre ambos.

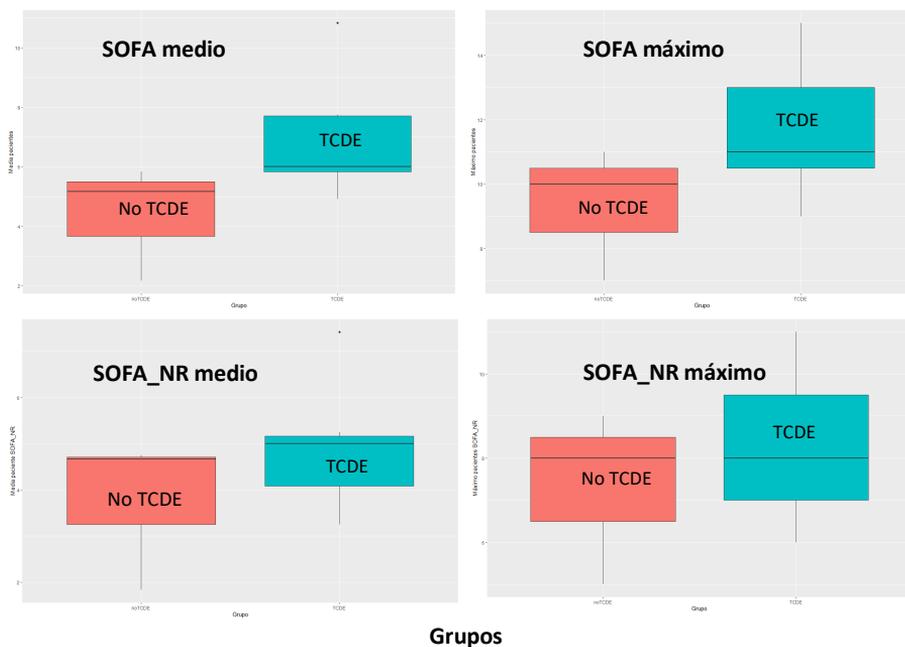


Figura 16. Valores medios y máximos de la escala SOFA y SOFA_NR en los grupos no TCDE y TCDE.

NR (No renal); SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*),
TCDE (Técnica continua de depuración Extrarrenal)

Calculamos el delta SOFA al 3º, 5º y 7º día de evolución, observando que el mayor porcentaje de mejoría corresponde al Delta SOFA_7 (Figura 17).

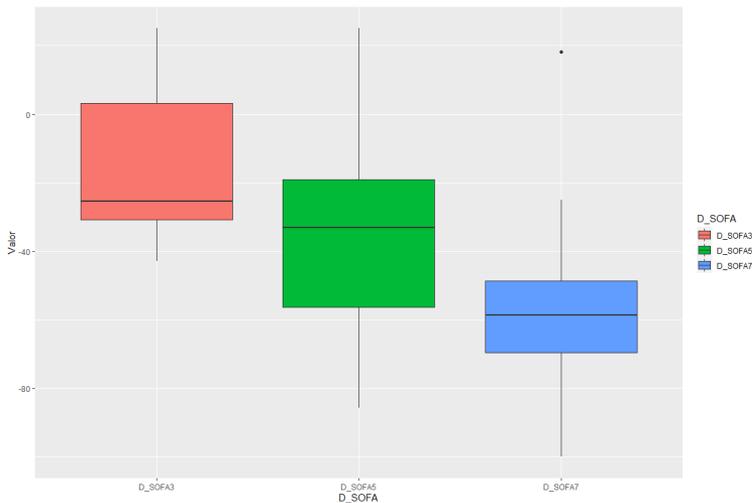


Figura 17. Evolución de los Delta SOFA analizados.

4.1.2 Variables analíticas.

En la Tabla 5, se exponen los parámetros analíticos relacionados con sepsis, inflamación y/o LRA de los 18 pacientes estudiados y por grupos NoTCDE y TCDE en diferentes momentos evolutivos, al ingreso (T0), 24 (T2) y 72 horas (T3), sin evidenciar diferencias significativas entre los grupos excepto en los niveles de fósforo y de magnesio, que fueron significativamente inferiores en el grupo NoTCDE.

En la Tabla 6, se resumen las características principales del grupo TCDE, tanto analíticas, motivo de inicio de las técnicas y las complicaciones.

Tabla 5. Datos analíticos en distintos momentos evolutivos.

	Todos (n=18)			NoTCDE (n=10)			TCDE (n=8)			p =
Láctico (mmol/L) m DE	T0 3,1 2	T2 2,2 1,2	T3 1,3 0,5	T0 3,6 1,9	T2 2,1 1,2	T3 1,2 0,5	T0 2,4 2,1	T2 2,3 1,3	T3 1,5 0,5	0,11
Hemoglobina (g/dL) m DE	T0 11,6 2,1	T2 10,6 1,5	T3 9,5 1,5	T0 11,6 1,8	T2 10,7 1,1	T3 9,8 1,7	T0 11,6 2,6	T2 10,6 2	T3 9,2 1,3	0,72
Leucocitos (x 10 ³ /μL) m DE	T0 17.206 10.807	T2 22.285 12.324	T3 15.286 7.703	T0 16.327 11.213	T2 25.224 12.424	T3 14.881 7.353	T0 18.306 10.933	T2 18.611 11.943	T3 15.793 8.606	0,18
Neutrofilos (x 10 ³ /μL) m DE	T0 15.366 10.297	T2 20.089 12.015	T3 12.965 7.550	T0 14.891 10.773	T2 23.068 12.136	T3 12.563 7.315	T0 15.961 10.371	T2 16.366 11.519	T3 13.468 8.313	0,12
Linfocitos (x 10 ³ /μL) m DE	T0 958 570	T2 1.191 644	T3 1.361 575	T0 743 443	T2 1.174 519	T3 1.393 449	T0 1.228 621	T2 1.213 813	T3 1.321 735	0,16
Ne/Linf (x 10 ³ /μL) m DE	T0 17,5 11,4	T2 20,8 16,5	T3 10,6 6,1	T0 20,5 14	T2 23,7 19,8	T3 9,9 6,9	T0 13,6 6	T2 17,2 11,5	T3 11,5 5,1	0,14
PCR (mg/L) m DE	T0 274 137,1	T2 287,6 116,3	T3 151 88,6	T0 265,9 105,9	T2 308,7 104,6	T3 136,7 71,5	T0 284,1 176	T2 261,2 131,7	T3 168,8 108,9	0,10
Sodio (mEq/L) m DE	T0 139,1 6,5	T2 139,6 2,7	T3 139,8 3,8	T0 140,6 7	T2 140,6 2,5	T3 140,2 3,6	T0 137,1 5,7	T2 138,3 2,5	T3 139,3 4,2	0,46
Potasio (mEq/L) m DE	T0 3,8 0,6	T2 4 0,5	T3 4 0,5	T0 3,6 0,5	T2 4,1 0,5	T3 4,1 0,6	T0 4,1 0,6	T2 3,9 0,3	T3 3,9 0,5	0,08
Cloro (mEq/L) m DE	T0 107,6 6,6	T2 107,3 3,8	T3 106,4 4	T0 107,9 7,2	T2 108,4 3,5	T3 106,7 5	T0 107,3 6,2	T2 106 4	T3 106,1 2,5	0,43
Fósforo (mg/dL) m DE	T0 5,1 3,6	T2 3,5 1,2	T3 2,5 1	T0 3,1 1,3	T2 3,4 0,9	T3 2,4 0,7	T0 7,1 4,6	T2 3,6 1,5	T3 2,7 1,2	0,02
Magnesio (mg/dL) m DE	T0 2 0,6	T2 2,1 0,3	T3 1,9 0,3	T0 1,8 0,7	T2 2,1 0,5	T3 1,8 0,3	T0 2,2 0,5	T2 2 0,2	T3 2 0,2	0,03
Calcio iónico (mg/dL) m DE	T0 4,2 0,4	T2 4,4 0,3	T3 4,6 0,2	T0 4,4 0,3	T2 4,4 0,3	T3 4,6 0,2	T0 4 0,4	T2 4,5 0,3	T3 4,7 0,2	0,10
Colesterol (mg/dL) m DE	T0 119,6 34,5	T2 111,3 57,5	T3 116,5 45	T0 128,3 40,3	T2 107,8 34,5	T3 126,4 10,3	T0 111 27,9	T2 114,8 80,5	T3 107,8 61,4	NR
Triglicéridos (mg/dL) m DE	T0 182,4 110,8	T2 206,7 85,9	T3 200,7 71,8	T0 169,9 40,3	T2 210,8 34,5	T3 225,9 10,3	T0 195 140,4	T2 201,3 85,2	T3 175,6 64,3	NR

Vitamina D (ng/mL) m DE	T0	T2	T3	T0	T2	T3	T0	T2	T3	0,79
	15,2	12,53	12,51	18,2	14,3	12,4	10,9	11,2	12,6	
Proteínas T (g/dL) m DE	T0	T2	T3	T0	T2	T3	T0	T2	T3	0,38
	5,9	5,4	5,1	5,5	5,7	5,2	6,2	5,2	4,9	
	7,5	6,7	8,7	8,01	7,76	11,5	4,3	6,1	8,9	
	1,4	0,6	0,6	0,6	0,4	0,6	2	0,6	0,7	

Las variables continuas se expresan como m (media) y DE (desviación estándar); dL (decilitro), g (gramos), Hb (hemoglobina), L (litro), mEq (miliequivalentes), mg (miligramos), mmol (milimoles), NR (no realizado), NRL (cociente neutrófilos/linfocitos), ng (nanogramos), PCR (Proteína C reactiva), TCDE (Técnica continua de depuración extrarrenal), T0 (al ingreso), T2 (a las 24 h), T3 (a las 72 h), µL (microlitros),

Tabla 6. Características del Grupo TCDE

Características	Valores
Días de TCDE (m, DE)	5,1 (3,4)
Analítica basal:	
- Urea (mg/dL)	119,7 (42,7)
- Creatinina (mg/dL)	4,0 (2,5)
- Potasio (mEq/L)	4,2 (0,6)
- pH	7,18 (0,1)
- Láctico (mmol/L)	2,5 (2,0)
Estadio KDIGO n (%)	I: 1 (12,5%) II: 3 (37,5%) III: 4 (50%)
Anticoagulación n (%)	Citrato: 1 (12,5%) Heparina: 6 (75%) Citrato y Heparina: 2 (12,5%)
Modalidad	HDFVVC: 6 (75%); HDFVVC y HDVVC: 2 (25%)
Inicio TCDE: n (%)	
- Oliguria	7 (87,5%)
- Sobrecarga hídrica	2 (25%)
- Shock	1 (12,5%)
- Hiperkalemia	0 (0%)
- Acidosis metabólica	6 (75%)
Complicaciones TCDE: n (%)	
Si (%)	8 (100%)
Hipotermia	7 (87,5%)
Trastornos electrolitos (%):	
- Hiponatremia	2 (25%)
- Hipopotasemia	4 (50%)
- Hipofosfatemia	5 (62,5%)
- Hipocalcemia	2 (25%)
- Hipomagnesemia	1 (12,5%)
- Hipoproteinemia	8 (100%)

Las variables categóricas se expresan en porcentaje (%)

Las variables continuas se expresan en media (m) y desviación estándar (DE); dl (decilitro), KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*), L (litros), mEq (miliequivalentes), mg (miligramos), mmol (milimoles), TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)

Se encontraron diferencias significativas evolutivas, es decir, entre los diferentes tiempos estudiados, en concreto entre el T0 y el T2-3 pero no cuando se comparan los grupos (NoTCDE vs TCDE) con lo que respecta a los leucocitos, linfocitos, neutrófilos, el cociente Neutrófilos/Linfocitos (NLR), la PCR, la Vitamina D, la hemoglobina y el lactato, como se observa en las Figuras 18-25. Las cifras de sodio, potasio y cloro no mostraron diferencias estadísticamente significativas ni durante la evolución ni por grupos (Figuras 26-28).

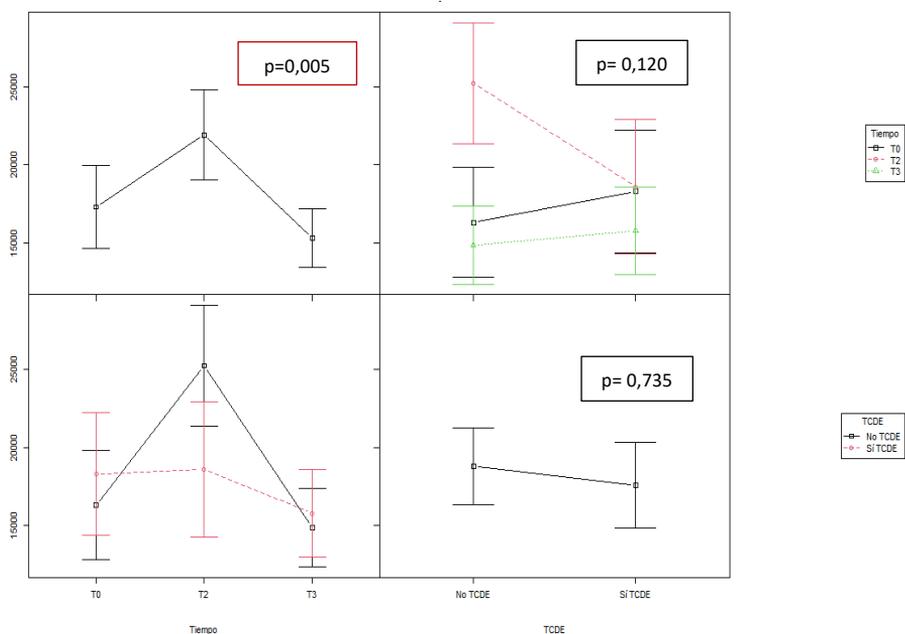


Figura 18. Evolución de los leucocitos por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal).

T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); cuadro rojo: p significativa < 0,05

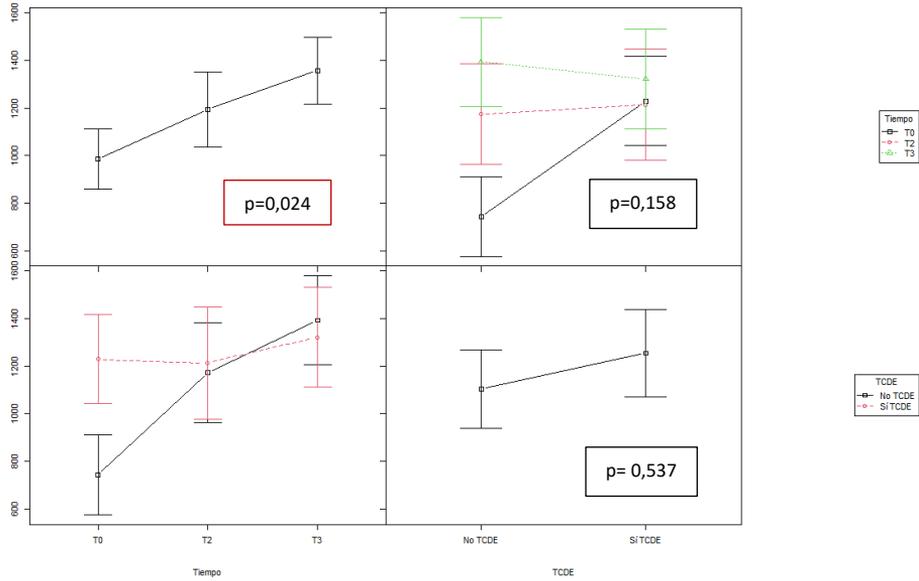


Figura 19. Evolución de los linfocitos por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas). Cuadro rojo: p significativa <0,05

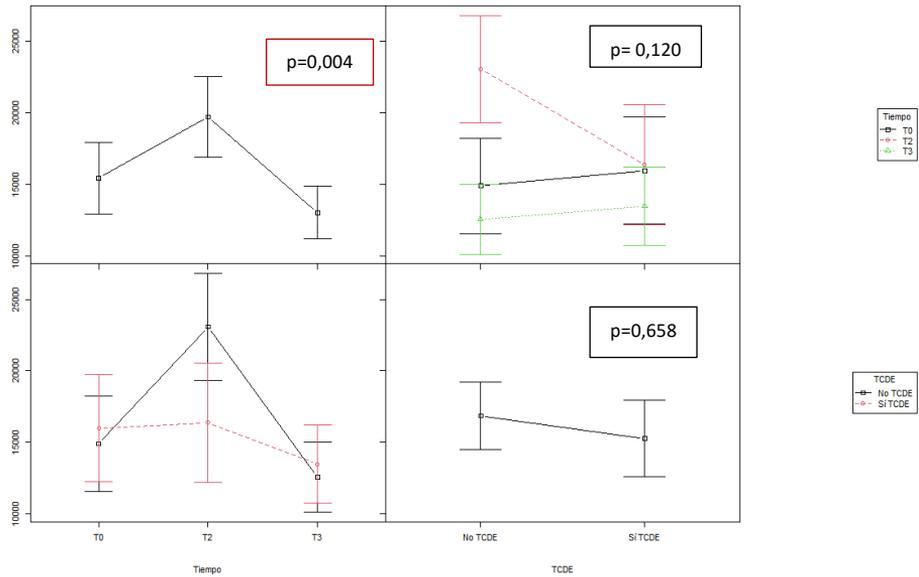


Figura 20. Evolución de los neutrófilos por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); Cuadro rojo: p significativa <0,05

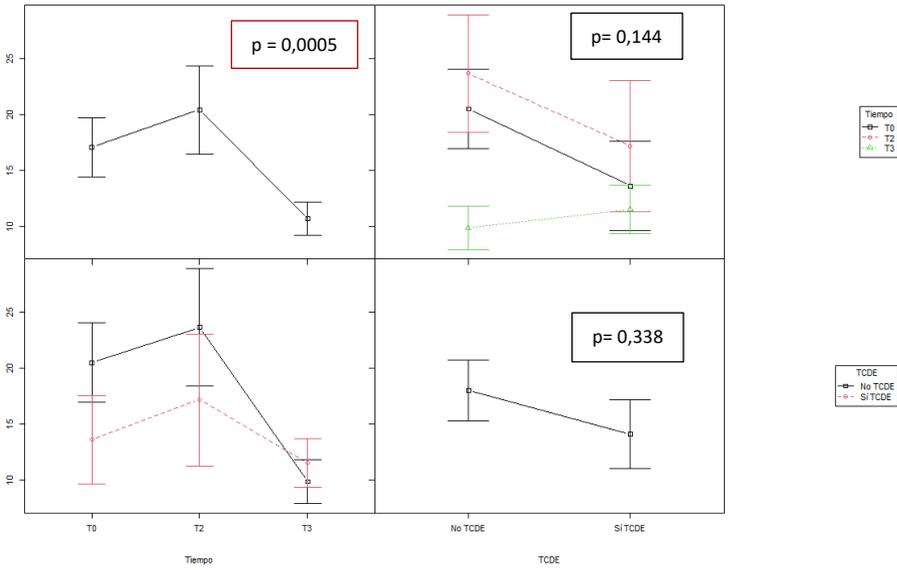


Figura 21. Evolución del cociente neutrófilos/linfocitos por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
 T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); Cuadro rojo: p significativa <0,05

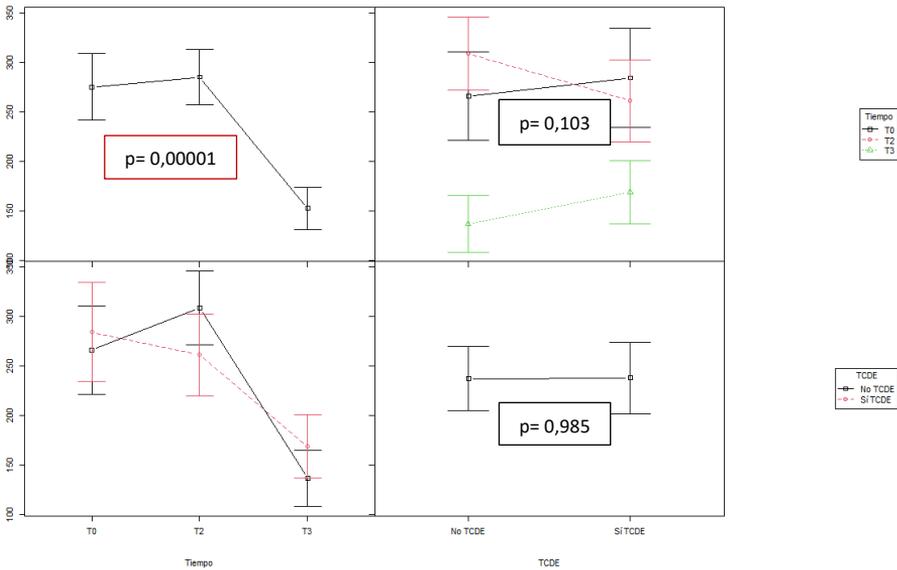


Figura 22. Evolución de la PCR por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
 T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); Cuadro rojo: p significativa <0,05

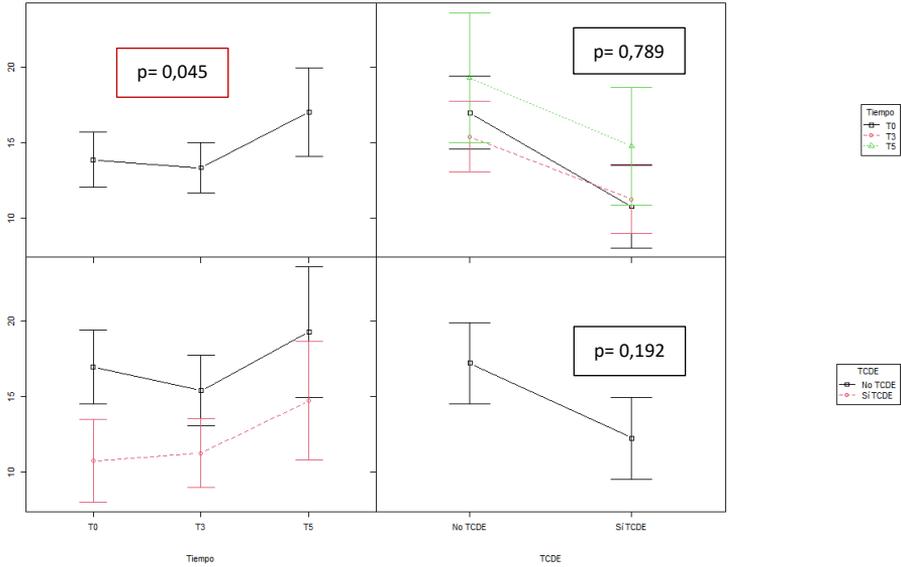


Figura 23. Evolución de la vitamina D por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
 T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); cuadro rojo: p significativa <0,05

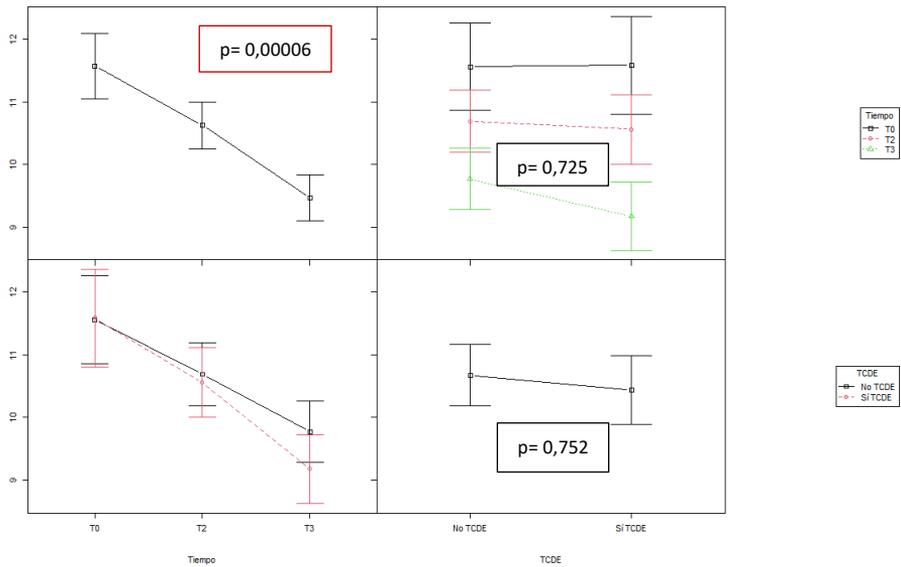


Figura 24. Evolución de la hemoglobina por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
 T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); cuadro rojo: p significativa <0,05

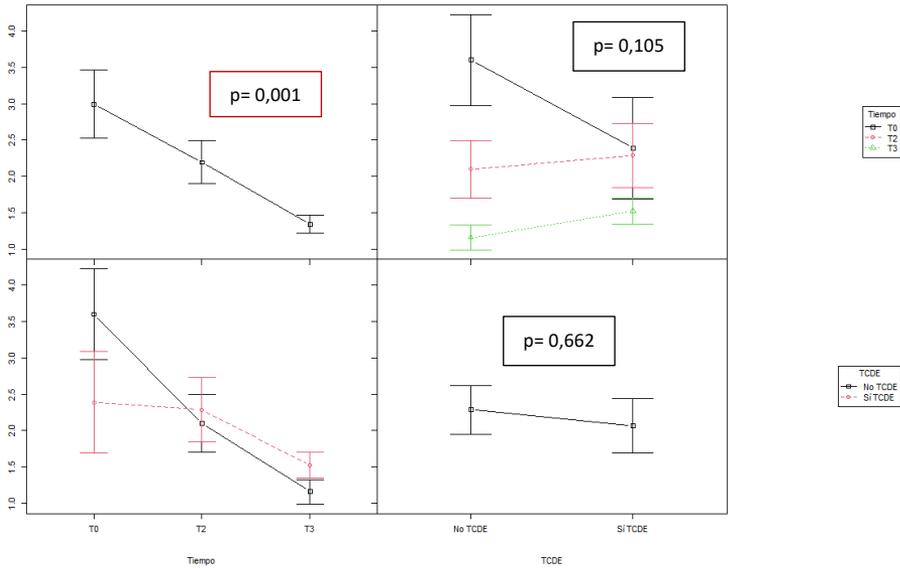


Figura 25. Evolución del ácido láctico por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); cuadro rojo: p significativa < 0,05

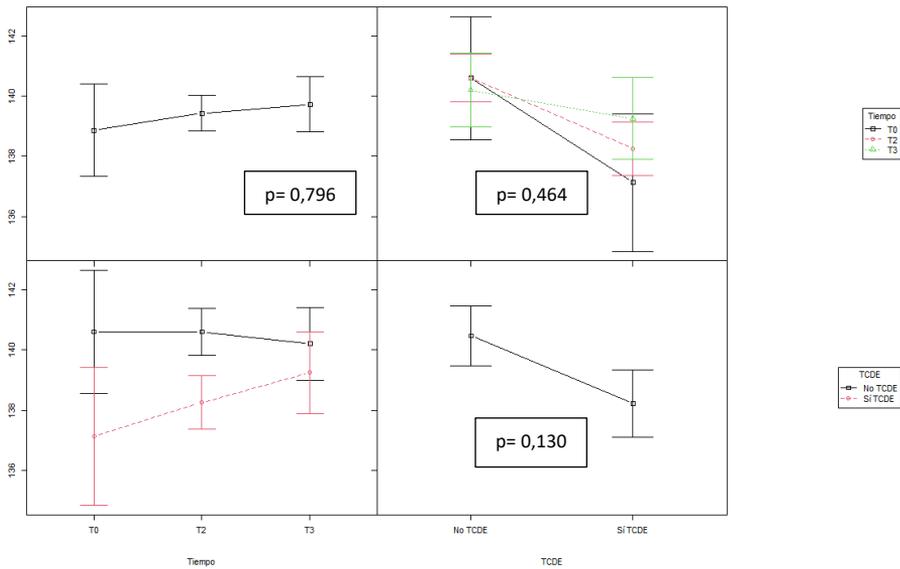


Figura 26. Evolución del sodio por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas)

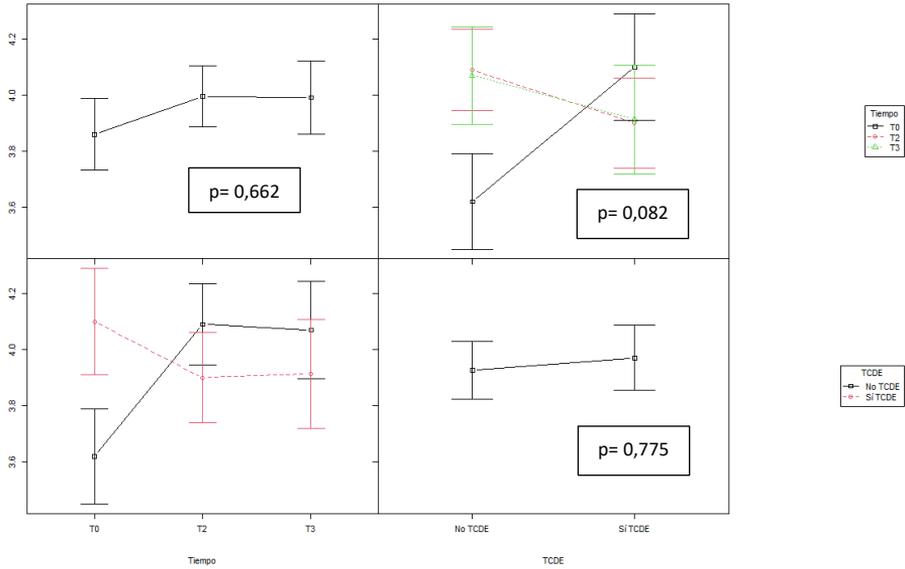


Figura 27. Evolución del potasio por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)

T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas)

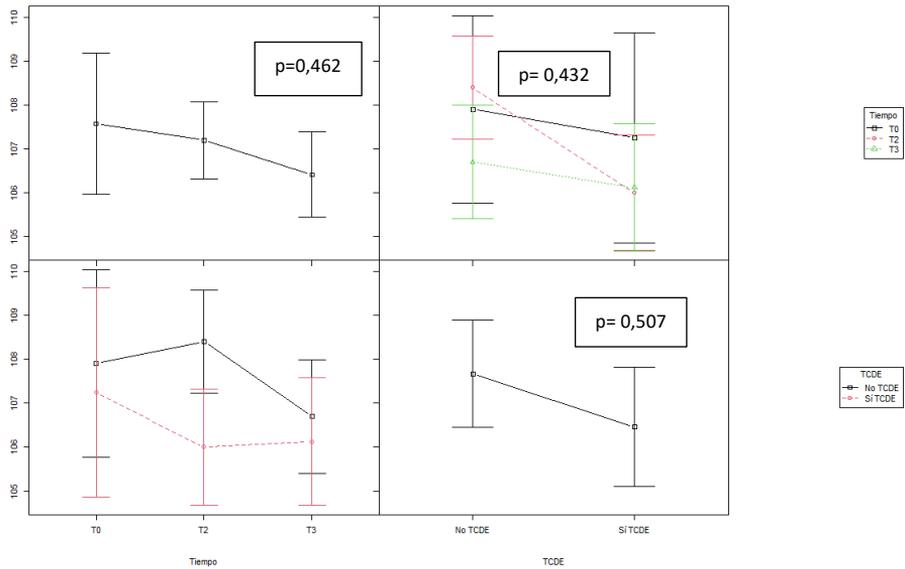


Figura 28. Evolución del cloro por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)

T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas)

Con el fósforo, magnesio y calcio iónico no ocurrió lo mismo que con el sodio, potasio y cloro. Con el fósforo, se detectaron diferencias significativas entre los grupos y durante la evolución, es decir entre los tiempos estudiados (Figura 29) y en el grupo TCDE entre el ingreso y las 24 h. Con el magnesio, no se encontraron diferencias entre los grupos ni evolutivamente, solo en el grupo TCDE se encontraron diferencias significativas a partir de las 72 horas de tratamiento (Figura 30). Respecto al Ca^{2+} , tampoco se detectaron diferencias significativas entre el grupo No TCDE y TCDE, pero sí evolutivamente, aumentando significativamente desde el T0 al resto de tiempos y en concreto en el grupo TCDE estas diferencias ya fueron significativas desde T0 al T2 (Figura 31).

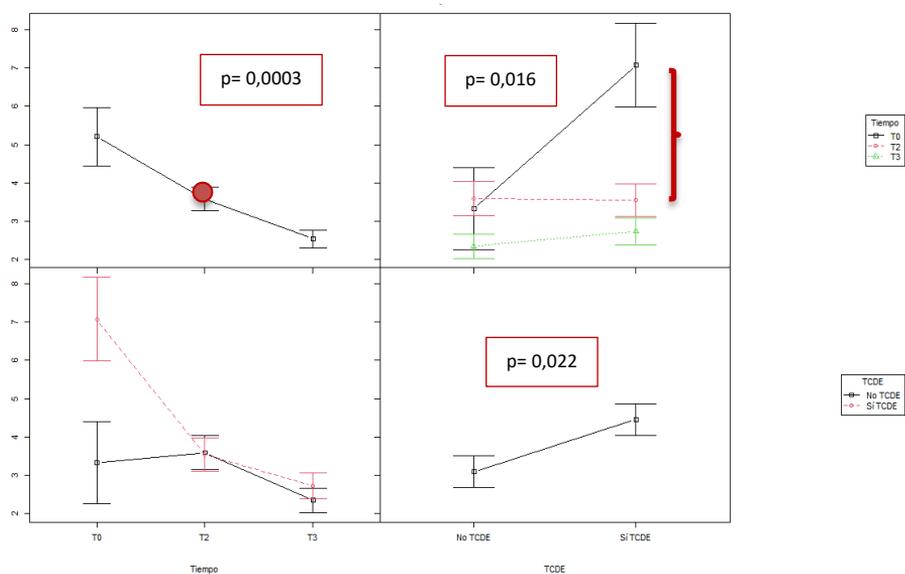


Figura 29. Evolución del Fósforo por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); cuadro rojo: p significativa <0,05
Punto rojo cuadro superior izquierda: descenso significativo del P a las 24 h
Paréntesis rojo cuadro superior derecha: descenso significativo del P en el grupo
TCDE desde el ingreso a las 24 h (desde T0 al T2).

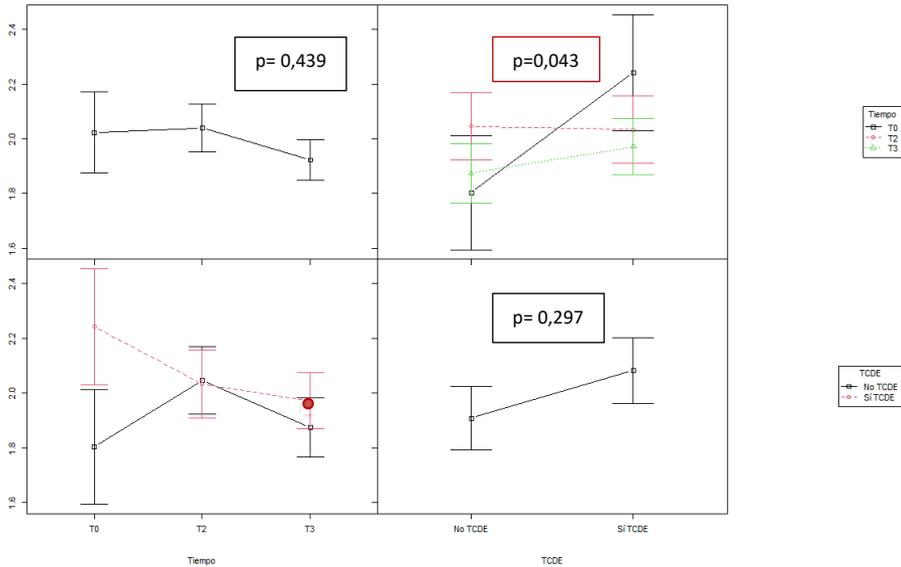


Figura 30. Evolución del Magnesio por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
 T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); cuadro rojo: p significativa < 0,05
 Punto rojo cuadro inferior izquierda: descenso significativo del Mg en el grupo
 TCDE desde el ingreso a las 72 h (desde T0 al T3)

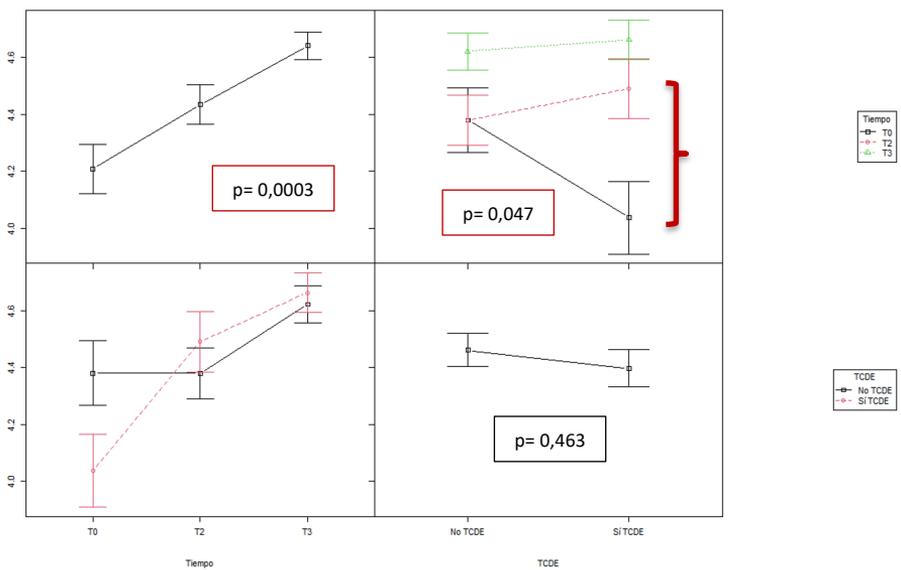


Figura 31. Evolución del Cai por tiempos y grupos.

TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)
 T0 (ingreso), T2 (24 horas), T3 (72 horas); cuadro rojo: p significativa < 0,05
 Paréntesis rojo en cuadro superior derecha: aumento significativo del Ca^{2+} en el grupo
 TCDE desde el ingreso a las 24 h (desde T0 al T2)

La evolución de las poblaciones linfocitarias en los distintos tiempos evolutivos y por grupos se muestra en Tabla 7, no pudiendo realizar test estadísticos por no disponer de muestras en todos los tiempos de todos los pacientes

Tabla 7. Evolución de las poblaciones linfocitarias

	Todos (n= 18)			NoTCDE (n= 10)			TCDE (N=8)			p
	T0	T3	T5	T0	T3	T5	T0	T3	T5	
Linf T CD45+ (células/ μ L) m DE	746,7 431,6	1.140,1 428,1	1.226,5 434,5	674,8 357,9	1.211,8 414,8	1.407,3 327	798 498,8	1.076,3 454,1	684 45,3	NR
Linf T CD3+ (células/ μ L) m DE	500 395	802,2 305,1	934,6 338,9	440 269,4	866,6 312,2	1.077,2 249,2	543,7 482,1	745 305,1	507 77,8	NR
Linf T CD4+ (células/ μ L) m DE	328,7 258,3	563,6 225,3	656,4 313,7	246 154,1	569,6 243,5	755,7 300,7	387,7 311,1	558,2 222,7	358,5 14,8	NR
Linf T CD8+ (células/ μ L) m DE	169 166,8	233,1 161,8	268,5 163,4	192,6 157,7	291 205,8	308,3 168,6	152,1 183,5	181,7 94,8	149 82	NR
Linf B CD19 (células/ μ L) m DE	140,9 79,5	222,3 138,9	167,6 143,5	133,4 106,8	248,6 126,4	191,7 159,9	146,3 62,4	198,9 152,6	95,5 50,2	NR
NK CD 16+ (células/ μ L) m DE	96,4 56,3	103 85,7	103,5 63,6	91,4 73,3	84,3 97	112 63	100 46,9	119,7 76,5	78 82	NR
Linf CD3+CD4+CD8+ (células/ μ L) m DE	4,5 7,4	5,8 4	7,3 3,7	3,8 2,6	4,4 3,3	6,5 2	5 9,7	7 4,4	9,5 7,8	NR
CD4/CD8 m DE	3,2 2,3	3,4 2,2	3,4 2,5	2,6 3	3,2 3,1	3,5 2,9	3,7 1,8	3,5 1,1	2,8 1,4	NR

Las variables continuas se expresan en media (m) y desviación estándar (DE)

Linf (linfocitos), μ L (microlitro), NK (células *Natural Killer*), NR (no realizado), TCDE (Técnicas continuas de depuración extrarrenal)

4.2 ANÁLISIS PROTEÓMICO: IDENTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS EN LAS MUESTRAS PLASMÁTICAS Y LAS MUESTRAS DEL ULTRAFILTRADO.

4.2.1 Descripción general de las proteínas identificadas y cuantificadas

El análisis de espectrometría de masas (MS/MS) de las proteínas plasmáticas y del ultrafiltrado de los pacientes con shock séptico y/o sepsis con lesión renal aguda con o sin TCDE, permitió identificar 593 proteínas únicas con una confianza $\geq 96\%$. De éstas, se cuantificaron 542 proteínas, 463 proteínas en las 70 muestras de plasma y 261 proteínas en las 24 muestras de ultrafiltrado. Como se muestra en el diagrama de Venn (Figura 32 y Figura 33), 182 proteínas se cuantificaron en ambos tipos de muestras.

En el Anexo V, se muestran los nombres de las proteínas cuantificadas, códigos, genes y pesos moleculares.

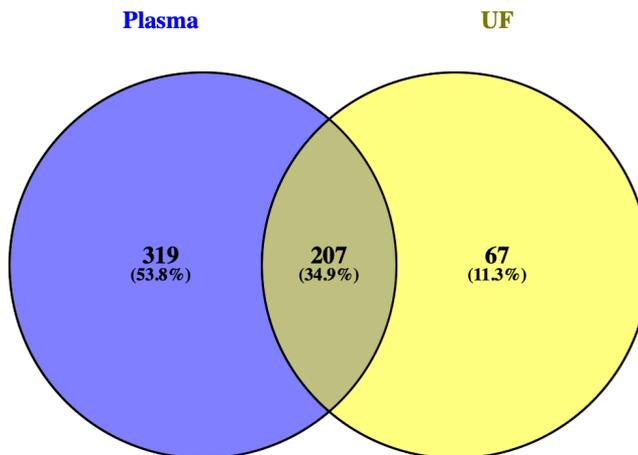


Figura 32. Proteínas identificadas en las muestras analizadas

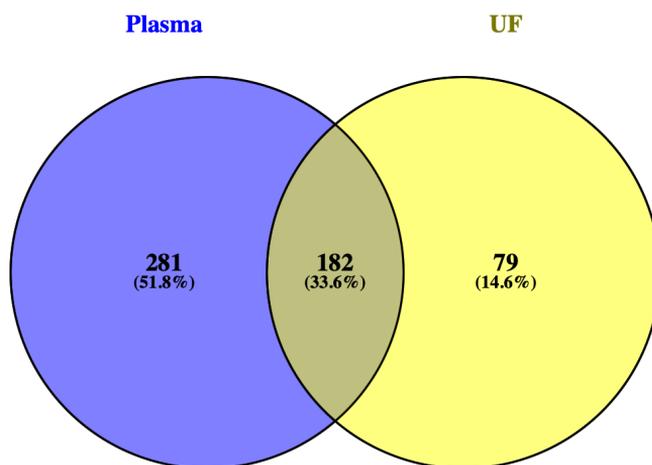


Figura 33. Proteínas cuantificadas en las muestras analizadas

4.2.2 Análisis diferencial de los perfiles proteicos plasmáticos de los grupos TCDE y NoTCDE

Como se ha indicado en la sección de Materiales y Métodos, se utilizaron varios métodos estadísticos que permiten el análisis de datos ómicos en los que el número de variables es muy superior al número de muestras. Para reducir la variabilidad y el número de falsos positivos, se han seleccionado las proteínas cuantificadas con 3 o más péptidos en el análisis SWATH. Esto ha dejado un total de 229 proteínas sólidamente cuantificadas. El objetivo de este análisis diferencial es identificar un conjunto de proteínas que puedan clasificar los grupos TCDE y NoTCDE en el momento de ingreso o basal (T0).

4.2.2.1 Análisis estadístico no supervisado

En general, los análisis proteómicos diferenciales tratan de analizar los perfiles proteicos de los grupos de pacientes objeto de estudio con el fin de asociar perfiles concretos a fenotipos patológicos de interés. Los procedimientos de análisis no supervisados permiten agrupar las muestras en función de la similitud de las variables observadas de una manera totalmente objetiva. En principio, si los cambios inducidos por la patología son mayores que la variabilidad biológica la agrupación no supervisada debería coincidir con los grupos experimentales.

Se utilizaron dos métodos no supervisados distintos. El primero de ellos fue un análisis de regresión sin supervisión (análisis de clústeres jerárquicos) (Figura 34). En segundo lugar, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (PCA) clásico que nos permitió explorar las principales fuentes de variación en los datos (Figura 35). Si bien el análisis de clústeres no muestra una agrupación clara de las muestras TCDE y NoTCDE, el análisis PCA sí que indica una mayor similitud entre las muestras de cada grupo. Así, las muestras NoTCDE se concentran en el cuadrante inferior izquierda de la representación de los componentes principales 1 y 2. Estos resultados indican que, aunque la variabilidad biológica es considerable, las diferencias inducidas por la patología en los perfiles proteicos también son significativas.

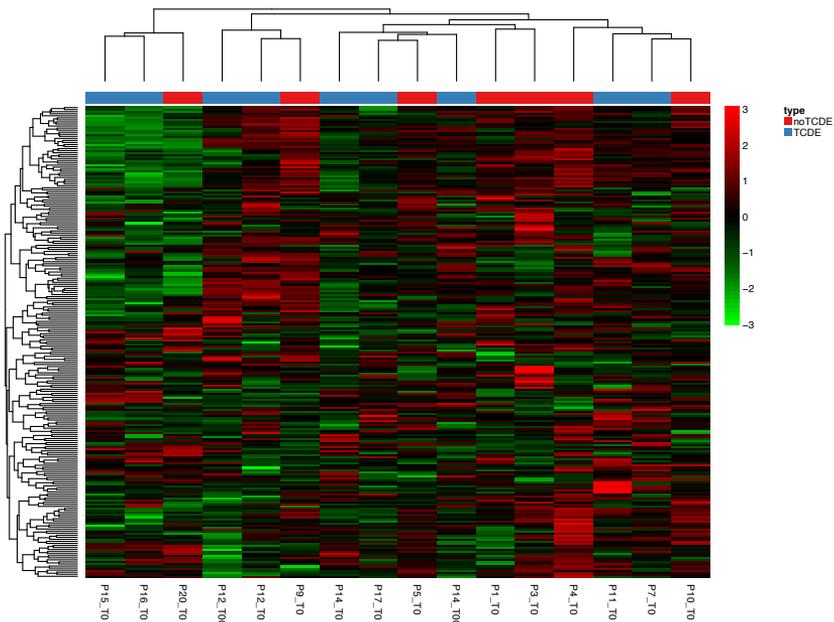


Figura 34. Mapa de calor de las 229 proteínas al ingreso (T0).

TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

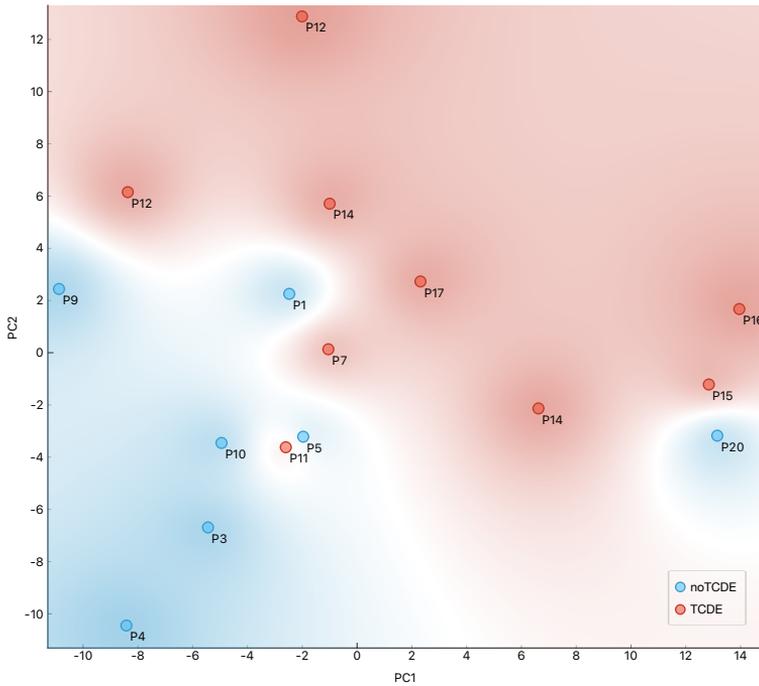


Figura 35. PCA de todas las muestras al ingreso (T0)

TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

4.2.2.2 Regresión binomial con penalización Lasso y Elastic Net.

Los resultados de los análisis no supervisados sugieren que los métodos de análisis supervisados sí que podrían identificar una serie de proteínas diferenciales entre los grupos TCDE y NoTCDE. El primer método con supervisión empleado para comparar estos dos grupos fue un modelo de regresión binomial con penalización Lasso en el que se aplicó un procedimiento de validación cruzada. Este análisis seleccionó dos proteínas con las que se consiguió una buena clasificación y agrupación de las muestras, como se muestra en la curva ROC (con AUC = 0,95, Figura 36) y el análisis de clústeres jerárquicos (Figura 37), respectivamente.

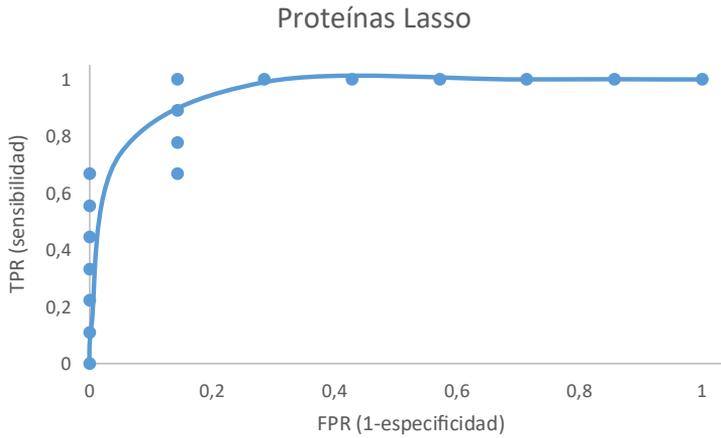


Figura 36. Curva ROC obtenida con las 2 proteínas seleccionadas en el análisis Lasso

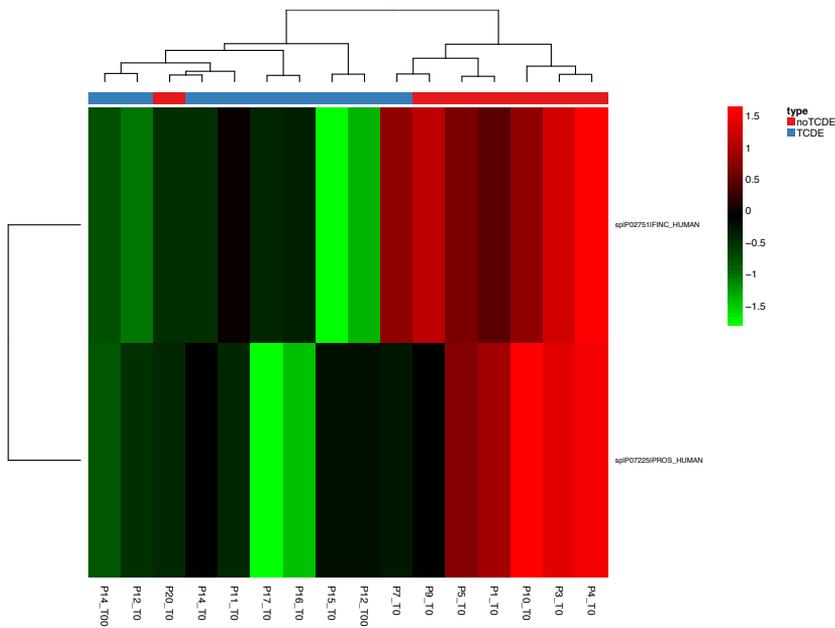


Figura 37. Mapa de calor de las 2 proteínas identificadas al ingreso (T0) en el análisis Lasso.

TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

La penalización Lasso es bastante restrictiva y puede no seleccionar correctamente proteínas que muestren una correlación significativa. Para evitar estas limitaciones, también analizamos los datos cuantitativos aplicando un modelo de regresión con la penalización Elastic Net. Dicho análisis seleccionó un total de 22 proteínas. Estas proteínas permiten agrupar perfectamente las

muestras al ingreso (T0) (Figura 38) así como una clasificación ideal mediante curva ROC con un AUC = 1 (Figura 39).

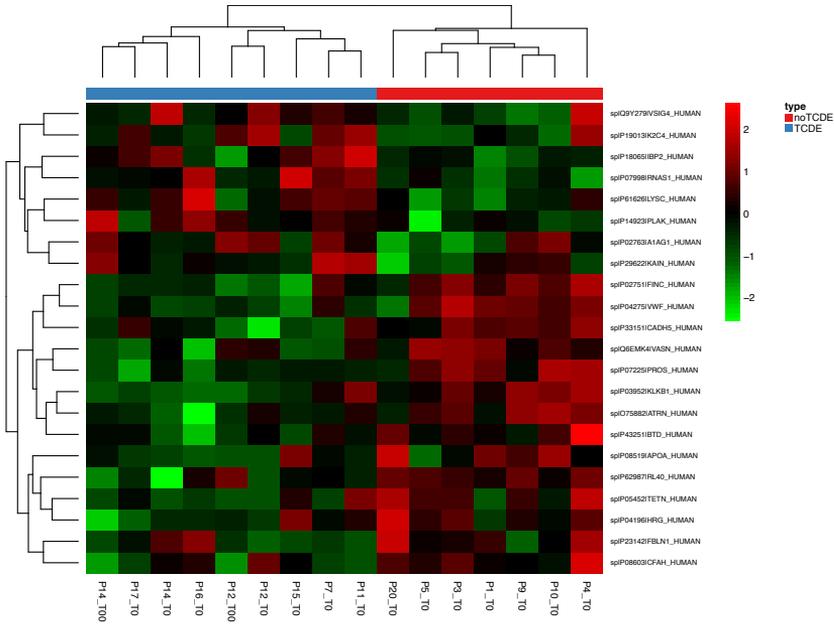


Figura 38. Mapa de calor de las 229 proteínas al ingreso (T0) analizadas en Elastic Net.
TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

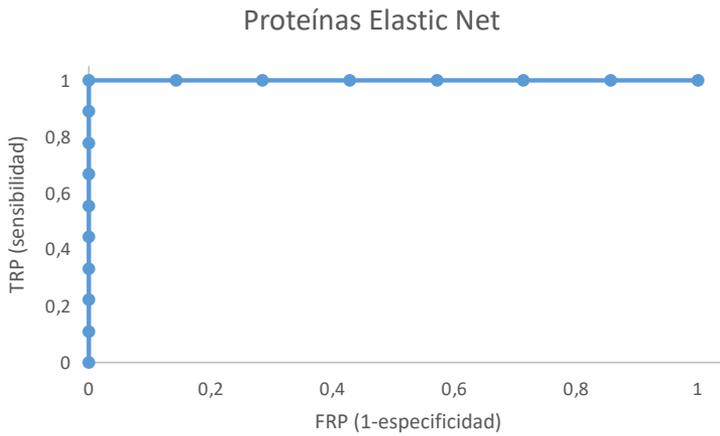


Figura 39. Curva ROC de las 22 proteínas detectadas al ingreso con Elastic Net

En la Tabla 8 y en la Figura 40 se muestran las proteínas seleccionadas con información biológica relevante sobre su función y las diferencias entre ambos grupos respectivamente. Como era de esperar, las 2 proteínas seleccionadas en Lasso están incluidas en las 22 proteínas seleccionadas en Elastic Net y se muestran con un sombreado gris en la Tabla 8.

Tabla 8. Características principales de las proteínas clasificadas en el Elastic Net y Lasso, Grupo TCDE y NoTCDE

ACC	Nombre	Gen	Función	Procesos Biológicos
P08603	CFAH_HUMAN Complement factor H (H factor 1)	CHF	Glicoproteína con papel esencial en el mantenimiento de una respuesta inmune equilibrada mediante la activación moduladora del complemento. Actúa como un inhibidor soluble del complemento uniéndose a marcadores propios como estructuras del glicano previniendo la activación y amplificación del complemento en superficies celulares. Acelera la desintegración de la vía alternativa del complemento, C3 convertasa C3bBb, evitando la formación local de más C3b, el reproductor central del bucle de amplificación del complemento. Media en varias respuestas celulares a través de la interacción con receptores específicos. Por ejemplo, interactúa con el receptor CR3/ITGAM mediando en la adhesión de neutrófilos humanos a diferentes patógenos. A su vez, estos patógenos son fagocitados y destruidos.	Activación de las Vías del Complemento Activación de las vías alternativas. Procesos virales.
P04275	VWF_HUMAN Von Willebrand factor (vWF)	VWF	Importante en el mantenimiento de la hemostasia, promueve la adhesión de plaquetas a los sitios de lesión vascular mediante la formación de un puente molecular entre la matriz de colágeno subendotelial y el complejo receptor de superficie plaquetaria GPIb-IX-V. También actúa como chaperona para el factor de coagulación VIII, entregarlo al sitio de la lesión, estabilizando su estructura heterodimérica y protegiéndolo de la eliminación prematura del plasma.	Vía intrínseca de la Coagulación Adhesión celular Organización de la matriz extracelular Hemostasia Activación y degranulación de plaquetas Respuesta a las heridas
P07225	PROS_HUMAN Proteína S-dependiente Vitamina K	PROS1	Proteína plasmática anticoagulante; cofactor de la proteína C activada en la degradación de los factores de coagulación Va y VIIIa. Ayuda a prevenir la coagulación y estimula la fibrinólisis.	Coagulación Fibrinólisis Hemostasia Ligando del calcio Regulación de la activación del complemento

P02751	FINC_HUMAN Fibronectina	FN1	Las fibronectinas se unen a las superficies celulares y a varios compuestos: colágeno, fibrina, heparina, ADN y actina. Involucradas en la adherencia celular, motilidad celular, opsonización, cicatrización de heridas y mantenimiento de la forma celular. Participa en la compactación osteoblástica a través del proceso de ensamblaje de la matriz mediada por la fibronectina, fibrillogénesis celular, esencial para la mineralización osteoblástica.	Respuesta de fase aguda Angiogénesis Adhesión celular Regulación de la forma celular Unión a la heparina
P07998	RNAS1_HUMAN Ribonucleasa pancreática	RNASE 1	Endonucleasa que cataliza la escisión del ARN en el lado 3' de los nucleótidos de pirimidina. Actúa sobre el ARN de cadena simple y doble	Hidrólisis de enlace fosfodiéster ARN
P03952	KLKB1_HUMAN Kalicreina	KLKB1	La enzima divide los enlaces Lys-Arg y Arg-Ser. Activa el factor XII, libera bradiquinina y puede desempeñar un papel en el sistema renina-angiotensina mediante la conversión de prorenina en renina. Inhibida por Serpina 5.	Coagulación Hemostasia Fibrinólisis Respuesta inflamatoria
P33151	CADH5_HUMAN Cadherina-5	CDH5	Las cadherinas son proteínas de adherencia celular dependientes del calcio. Interactúan de manera homofílica en la conexión de las células; puede jugar un papel importante en la biología celular endotelial a través del control de la cohesión y organización de las uniones intercelulares. Se asocia con la α -catenina formando un enlace al citoesqueleto. Actúa en concierto con KRIT1 y PALS1 para establecer y mantener correcta la polaridad celular endotelial y la luz vascular.	Adhesión celular Unión al calcio y a metales
P04196	HRG_HUMAN Glucoproteína rica en histidina	HRG	Glucoproteína plasmática que se une a varios ligandos como el hemo, heparina, sulfato de heparán (en la superficie de las células endoteliales del hígado, pulmón, riñón y corazón), tromboespondina, plasminógeno e iones metálicos divalentes. Actúa como una proteína adaptadora implicada en la regulación de muchos procesos: aclaramiento de complejos inmunes y patógenos, quimiotaxis celular, adhesión celular, angiogénesis, coagulación y fibrinólisis. Media en la limpieza de células necróticas mediante la fagocitosis. Se une a subclases de IgG que contienen cadenas ligeras κ y λ inhibiendo la formación de complejos inmunes insolubles. Fija el plasminógeno a la superficie celular. Une las células T y altera la morfología celular. Modula la angiogénesis. Actúa como regulador de la vía de señalización del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) e inhibe la motilidad celular endotelial. Papel en la regulación de la angiogénesis tumoral y vigilancia inmune del tumor. Normaliza los vasos tumorales y promueve la inmunidad antitumoral polarizando los macrófagos asociados al tumor, lo que conduce a una disminución del crecimiento tumoral y metástasis.	Unión a la heparina Angiogénesis Coagulación Hemostasia Fibrinólisis Quimiotaxis Ligando del cobre y zinc

P08519	APOA_HUMAN Apolipoproteína A	LPA	Apo(a) es el principal componente de la lipoproteína(a). Tiene actividad proteínasa serina y es capaz de autoproteólisis. Inhibe el activador de plasminógeno de tipo tisular 1. Apo(a) puede ser proteolíticamente escindida, formando mini-Lp(a). Los fragmentos de apo(a) se acumulan en lesiones ateroscleróticas, donde pueden promover la trombogénesis. La O-glicosilación puede limitar la extensión de la fragmentación proteolítica. Se cree que la homología con el plasminógeno kringles IV y V subyace en la aterogénesis de la proteína, porque los fragmentos compiten con el plasminógeno para la unión a la fibrina(ogen).	Transporte de lípidos Transporte de hidrolasa, proteasa y serina proteasa
P61626	LYSC_HUMAN Lisozima C	LYZ	Las lisozimas tienen principalmente una función bacteriolítica; las de los tejidos y fluidos corporales están asociadas con el sistema monocito-macrófago y mejoran la actividad de los inmunoagentes. La lisozima C es capaz de hidrólisis y transglicosilación; también muestra una leve actividad esterasa. Actúa rápidamente sobre el péptido sustituido y el peptidoglucano no absorbido, y lentamente sobre los oligosacáridos de quitina.	Respuesta humoral antimicrobiana Formación de fibril amiloide Respuesta inflamatoria Defensa a bacterias Citólisis Degranulación de neutrófilos
P02763	A1AG1_HUMAN Glucoproteína ácida Alfa-1	ORM1	Funciona como proteína de transporte en el torrente sanguíneo. Se une a varios ligandos en el interior de su dominio beta-barril. También une las drogas sintéticas e influye en su distribución y disponibilidad en el cuerpo. Parece funcionar en la modulación de la actividad del sistema inmune durante la reacción de fase aguda.	Respuesta de fase aguda Respuesta inflamatoria Regulación negativa de la IL-6 y del FNT Degranulación de plaquetas y neutrófilos Regulación positiva de la IL-1 Regulación del sistema inmune
P19013	K2C4_HUMAN Queratina, tipo II citoesqueleto 4	KRT4	Hay dos tipos de queratina citoesquelética y microfibrilar: I (ácida; 40-55 kDa) y II (neutra a básica; 56-70 kDa).	Organización del citoesqueleto Diferenciación celular epitelial Queratinización Regulación negativa de la proliferación celular epitelial
Q9Y279	VSIG4_HUMAN V-set y proteína que contiene el dominio de la inmunoglobulina 4	VSIG4	Receptor fagocítico, fuerte regulador negativo de la proliferación de células T y la producción de IL2. Potente inhibidor de la vía alternativa del complemento convertasas.	Vía alternativa del complemento Inmunidad innata
P18065	IBP2_HUMAN Proteína ligadora del factor de crecimiento insulínico 2	IGFBP2	Inhibe las tasas de crecimiento y desarrollo mediadas por IGF. Las proteínas unidas a IGF prolongan la vida media de los IGF y se ha demostrado que inhiben o estimulan los efectos promotores del crecimiento de los IGF en el cultivo celular. Alteran la interacción de los IGFs con sus receptores de superficie celular.	Regulación del crecimiento

P05452	TETN_HUMAN Tetranectina	CLEC3B	La tetranectina se une al plasminógeno y al kringle aislado 4. Puede estar implicada en el empaquetado de moléculas destinadas a la exocitosis.	Respuesta celular a la sustancia orgánica Regulación positiva de la activación del plasminógeno
O75882	ATRN_HUMAN Atractina	ATRN	Participa en la agrupación inicial de células inmunitarias durante la respuesta inflamatoria y puede regular la actividad quimiotáctica de las quimiocinas. Puede desempeñar un papel en las vías de señalización melanocortina que regulan la homeostasis de la energía. Papel crítico en la mielinización normal del sistema nervioso central.	Respuesta inflamatoria Migración celular Desarrollo del cerebelo Respuesta al estrés oxidativo Desarrollo tisular
P62987	RL40_HUMAN Proteína ribosómica L40 de Ubiquitina-60S	UBA52	Ubiquitina: existe unida a otra proteína o libre. Cuando se une covalentemente, se conjuga con proteínas diana a través de un enlace isopéptido como un monómero (monoubiquitina), como polímero (cadenas de poliubiquitina). Las cadenas de poliubiquitina, cuando se unen a una proteína diana, tienen diferentes funciones según el residuo Lys de la ubiquitina al que está vinculada: Lys-6 (reparación del ADN); Lys-11 (involucrado en la degradación endoplasmática reticular y en la regulación del ciclo celular); Lys-29 (degradación lisosomal); Lys-33 (modificación de la quinasa); Lys-48 (degradación de proteínas a través del proteosoma); Lys-63 (endocitosis, respuestas de daño al ADN, procesos de señalización). La ubiquitina generalmente se conjuga con residuos de Lys de proteínas diana, sin embargo, en casos raros, se ha observado la conjugación con residuos de Cys o Ser. Cuando la poliubiquitina es libre, tiene funciones distintas (activación de las proteínas quinasas y la señalización). 60S proteína ribosómica L40: Componente de la subunidad 60S del ribosoma. La proteína ribosómica L40 es esencial para la traducción de un subconjunto de transcripciones celulares, y especialmente para la traducción dependiente de la tapa de los ARNm del virus de la estomatitis vesicular.	Procesos de modificación de proteínas celulares Traducción citoplasmática Detección de daño de ADN Vía de señalización mediada por la IL-1 Transporte intracelular de virus Organización de la membrana Regulación negativa del proceso apoptótico
Q6EMK4	VASN_HUMAN Vasorina (Protein slit-like 2)	VASN	Puede actuar como inhibidor de la señalización TGF-beta.	Respuesta celular a la hipoxia y al estado redox Regulación negativa de la transición epitelial a mesenquimal.
P43251	BTD_HUMAN Biotinidasa	BTD	Liberación catalítica de biotina de la biocitina, el producto de la degradación de las carboxilasas dependientes de biotina.	Procesos metabólicos de la biotina Desarrollo del Sistema nervioso central
P29622	KAIN_HUMAN Kalinstatina	SERPIN A4	Inhibe las actividades amidolíticas y kininogenasas humanas de la kallikrein tisular.	Inhibidor de la serina proteasa Degranulación de plaquetas

P23142	FBLN1_HUMAN Fibulina-1 (FIBL-1)	FBLN1	Incorporada en fibras de matriz que contienen fibronectina. Puede jugar un papel en la adhesión celular y la migración a lo largo de las fibras de proteína dentro de la matriz extracelular (ECM). Podría ser importante para ciertos procesos de desarrollo y contribuir a la organización supramolecular de la arquitectura de la MEC, en particular para las membranas basales. Implicada en la transformación celular y la invasión tumoral, parece ser un supresor tumoral. Puede desempeñar un papel en la hemostasia y la trombosis.	Coagulación sanguínea Regulación negativa de la adherencia celular, de la motilidad celular, de la fosforilación de proteínas Proceso viral Regulación negativa de la producción β del factor de crecimiento.
P14923	PLAK_HUMAN Plakoglobina de la unión	JUP	Proteína común de la placa de unión. Las placas asociadas a la membrana son elementos arquitectónicos con una posición estratégica importante para influir en la disposición y función tanto del citoesqueleto como de las células dentro del tejido. La presencia de plakoglobina tanto en los desmosomas como en las uniones intermedias sugiere que juega un papel central en la estructura y función de las placas submembranas. Actúa como un sustrato para VE-PTP y es requerido por él para estimular la función de VE-cadherina en las células endoteliales. Puede reemplazar la beta-catenina en los complejos de adhesión de E-cadherina/catenina que se proponen para emparejar las cadherinas con el citoesqueleto de actina.	Adhesión celular Regulación positiva de la angiogénesis Queratinización Degranulación de los neutrófilos

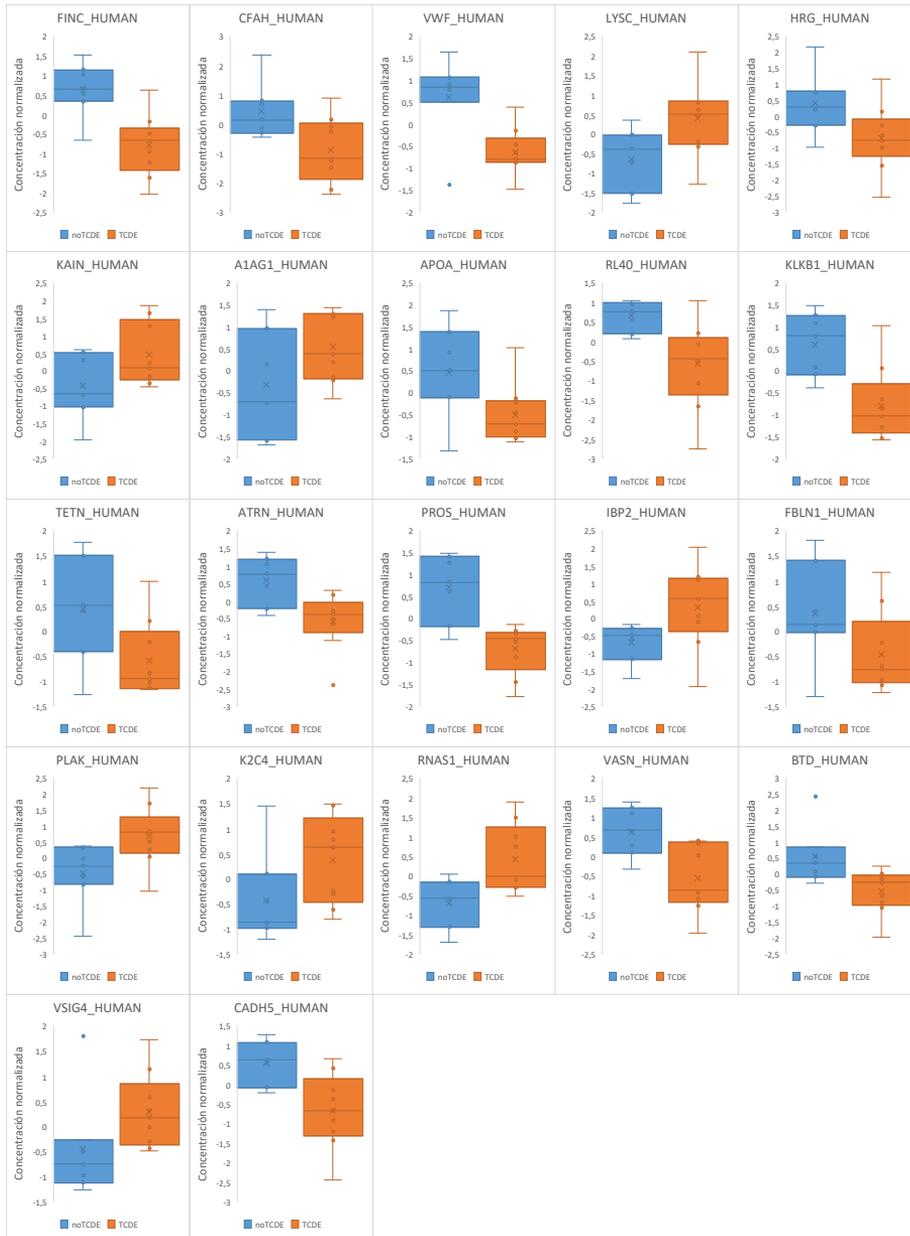


Figura 40. Diferencias entre las 22 proteínas clasificadoras de los grupos TCDE y NoTCDE

TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

4.2.2.3 Análisis discriminante PLS-DA

El tercer y último procedimiento supervisado fue un análisis de discriminantes PLS-DA. Este modelo de clasificación lineal lo aplicamos en dos etapas. En la primera etapa observamos que el modelo fue capaz de agrupar correctamente las muestras. A partir de este análisis, seleccionamos las 25 proteínas de los componentes 1 y 2 que más contribuyen a explicar la respuesta. En la segunda etapa, repetimos el análisis utilizando únicamente las proteínas seleccionadas como variables para determinar la capacidad de estas proteínas para agrupar las muestras y clasificarlas correctamente. Como puede verse en la Figura 41, el análisis con todas las proteínas realizado en la primera etapa consigue una perfecta agrupación de las muestras. Igualmente, cuando el análisis se realiza con las proteínas seleccionadas por su contribución en la respuesta de la segunda etapa, se reproduce el correcto agrupamiento de las muestras (Figura 42).

También se llevaron a cabo, como en casos anteriores, análisis de agrupación en clústeres jerárquicos y de clasificación con las proteínas seleccionadas por PLS-DA. En la Figura 43 se muestra cómo estas proteínas consiguen un agrupamiento razonable de las muestras en el que solo una muestra del grupo NoTCDE aparece situada entre muestras del grupo TCDE. De igual forma, la curva ROC obtenida con los datos del componente 1 (Figura 44) indica un alto valor de clasificación, con un AUC = 0,97.

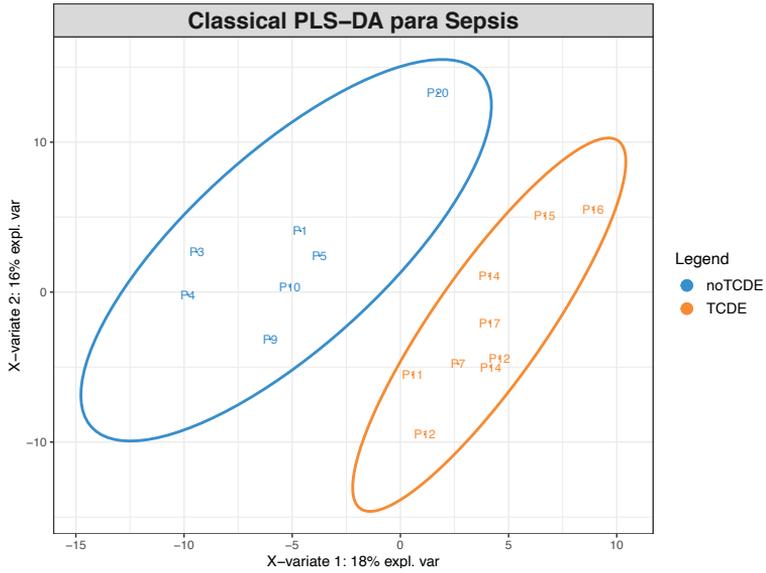


Figura 41. PLS-DA de todas las muestras al ingreso.
 TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal.

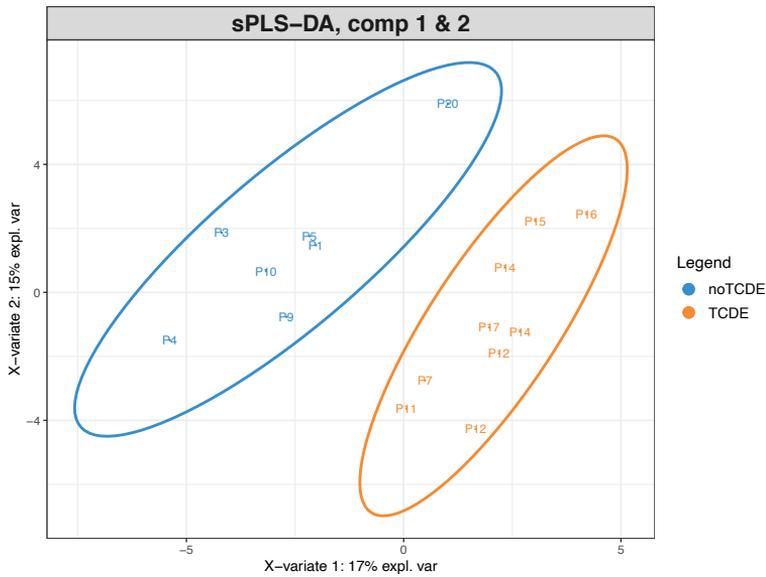


Figura 42. sPLS-DA de todas las muestras al ingreso.
 TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

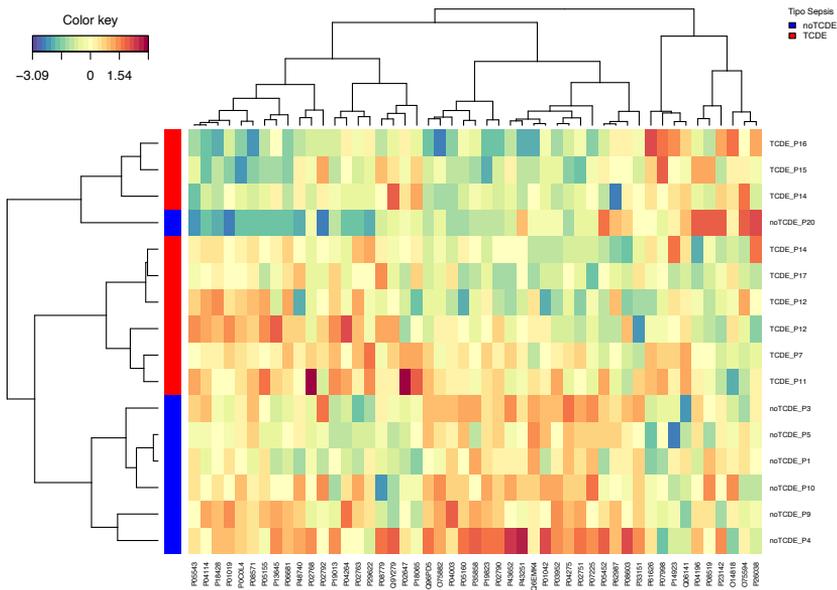


Figura 43. Mapa de calor de las proteínas seleccionadas en el s-PLS-DA
TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

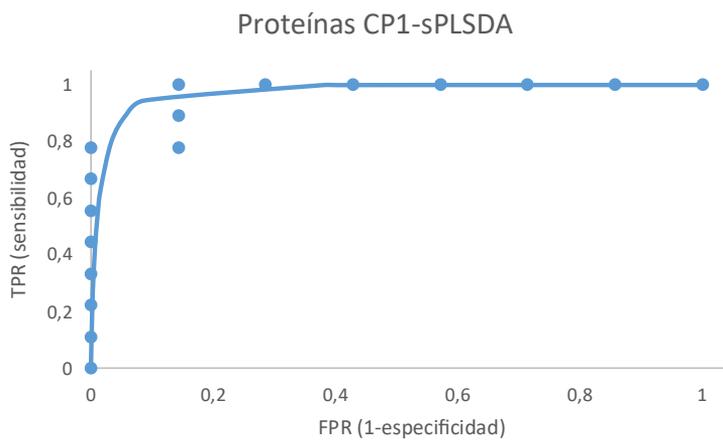


Figura 44. Curva ROC de las proteínas seleccionadas en el s-PLS-DA

Las proteínas seleccionadas en los componentes 1 y 2 se muestran en la Tabla 9, resaltando en negrita las que coinciden con las del Elastic Net.

Tabla 9. Proteínas seleccionadas en los Componentes principales 1 y 2, TCDE y NoTCDE.

COMPONENTE 1		COMPONENTE 2	
P07225	PROS_HUMAN. Proteína S dependiente de la Vit K	P19013	K2C4_HUMAN. Keratina tipo II citoesqueleto 4
P02751	FINC_HUMAN. Fibronectina	P06681	CO2_HUMAN. Complemento C2
P03952	KLKB1_HUMAN. Kallicreína	P05543	THBG_HUMAN. Serpina 7
P04275	VWF_HUMAN. Factor von Willebrand	P29622	KAIN_HUMAN. Kalstatina
O75882	ATRN_HUMAN. Atractina	P08571	CD14_HUMAN. Inhibidor de la diferenciación de monocitos CD14
Q6EMK4	VASN_HUMAN. Vasorina	P13645	K1C10_HUMAN. Keratina tipo I citoesqueleto 10
P33151	CADH5_HUMAN. Cadherina 5	P01019	ANGT_HUMAN. Angiotensinógeno
P07998	RNAS1_HUMAN. Ribonucleasa pancreática	P26038	MOES_HUMAN. Moesina
P62987	RL40_HUMAN. Proteína ribosómica L40 Ubiquitina-60S	Q9Y279	VSIG4_HUMAN. Proteína V-set que contiene el dominio de inmunoglobulina 4
P43251	BTD_HUMAN. Biotinidasa	P04114	APOB_HUMAN. Apolipoproteína B-100
Q06141	REG3A_HUMAN. Proteína $\alpha 3$ derivada de islote regenerador	P18065	IBP2_HUMAN. Proteína ligando al factor de crecimiento insulínico 2
P08603	CFAH_HUMAN. Factor de complemento H	P02763	A1AG1_HUMAN. glicoproteína ácida $\alpha 1$
P35858	ALS_HUMAN. Proteína ligando al factor de crecimiento insulínico, subunidad complejo ácido lábil	P02768	ALBU_HUMAN. Albúmina
P14923	PLAK_HUMAN. Plakoglobina de la unión	O75594	PGRP1_HUMAN. Proteína de reconocimiento peptidoglicano 1
P02790	HEMO_HUMAN. Hemopexina	P18428	LBP_HUMAN. Proteína de unión al lipopolisacárido
P01042	KNG1_HUMAN. Kininógeno 1	P0C0L4	CO4A_HUMAN. complemento C4A.
P04003	C4BPA_HUMAN. Cadena α de proteína de unión a C4B	P23142	FBLN1_HUMAN. Fibulina
Q96PD5	PGRP2_HUMAN. N-acetilmuramoil-L-alanina amidasa	P05155	IC1_HUMAN. Inhibidor plasmático de la proteasa C1
P61626	LYSC_HUMAN. Lizozoma C	P04264	K2C1_HUMAN. Keratina tipo I citoesqueleto 1
P43652	AFAM_HUMAN. Afamina	P08519	APOA_HUMAN. Apolipoproteína a
P05452	TETN_HUMAN. Tetranectina	O14818	PSA7_HUMAN. Subunidad de proteasoma subunidad $\alpha 7$
P05160	F13B_HUMAN. Factor de coagulación cadena XIIIb	P48740	MASP1_HUMAN. Lectina serina proteasa de unión al manano 1
P19823	ITIH2_HUMAN. Inhibidor de la cadena pesada inter- α -tripsina H2	P02792	FRIL_HUMAN. Cadena ligera de ferritina
P08519	APOA_HUMAN. Apolipoproteína a	P08779	K1C16_HUMAN. Keratina tipo I citoesqueleto 16
P04196	HRG_HUMAN. Glicoproteína rica en histidina	P02647	APOA1_HUMAN. Apolipoproteína A1

TCDE: Técnicas continuas de depuración extrarrenal

4.2.3 Análisis diferencial de las proteínas con respecto a la mortalidad

Con objeto de identificar proteínas que pudiesen ser consideradas como predictoras de mortalidad en los pacientes con sepsis y/o shock séptico con LRA, se llevó a cabo un análisis de penalización Lasso utilizando como variable respuesta la mortalidad y como variables predictoras las 229 proteínas cuantificadas con 3 ó más péptidos. El modelo seleccionó únicamente 2 proteínas que, a pesar de predecir correctamente, mostraron valores del predictor muy próximos entre los dos grupos. Con objeto de conseguir una mejor capacidad de clasificación se llevó a cabo un análisis mediante el procedimiento con penalización Elastic Net. En este caso el modelo seleccionó 10 proteínas cuyas abundancias se muestran en la Figura 45.

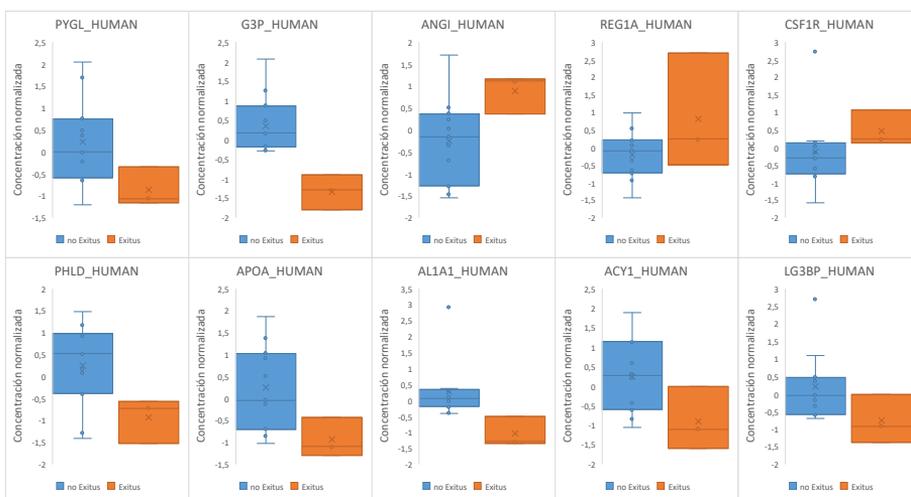


Figura 45. Abundancias de las proteínas seleccionadas que explicarían la mortalidad de la población estudiada.

Con las proteínas seleccionadas se obtuvo una agrupación y clasificación perfecta de las muestras, como muestra el análisis de clústeres jerárquicos (Figura 46) y mediante la curva ROC (Figura 47). En la

Tabla 10 se muestran algunos datos sobre la función de estas proteínas, sombreando en gris las 3 proteínas que aumentan en los pacientes que no sobreviven, mientras que las otras 7 proteínas disminuyen.

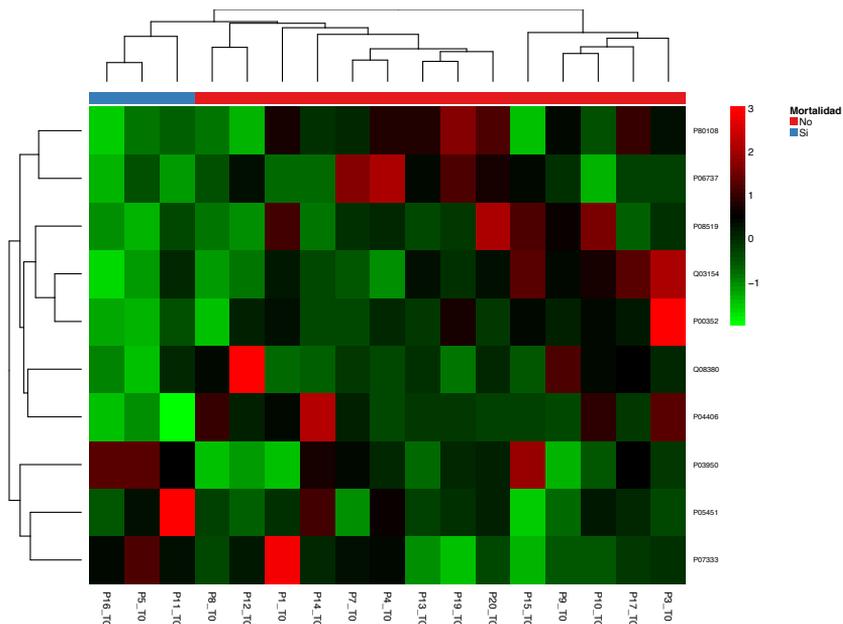


Figura 46. Mapa de calor de los clústeres mortalidad. Agrupación de las muestras en base a la abundancia de las proteínas seleccionadas por el modelo con penalización Elastic Net.

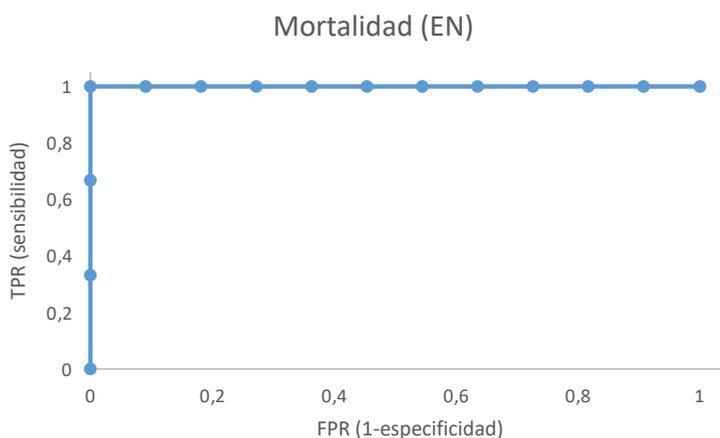


Figura 47. Curva ROC mortalidad. Clasificación de las muestras en base a la abundancia de las proteínas seleccionadas por el modelo con penalización Elastic Net.

Tabla 10. Características de las Proteínas seleccionadas relacionadas con la mortalidad

ACC	Nombre	Gen	Función	Procesos Biológicos
P06737	PYGL_HUMAN Glucógeno fosforilasa, forma hepática	PYGL	Enzima alostérica que cataliza el paso limitante en el catabolismo del glucógeno, la escisión fosfolítica del glucógeno para producir glucosa-1-fosfato, y juega un papel central en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa celular y orgánica.	Proceso metabólico y catabólico del glucógeno Homeostasis de la glucosa Proceso necroptótico
P04406	G3P_HUMAN Gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa	GAPDH	Tiene actividades de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y nitrosilasa, desempeñando un papel en la glucólisis y funciones nucleares, respectivamente. Enzima clave en la glucólisis que cataliza el primer paso de la vía mediante la conversión de D-gliceraldehído 3-fosfato (G3P) en fosfato 3-fosfo-D-gliceroil fosfato. Modula la organización y montaje del citoesqueleto. Facilita las asociaciones de microtúbulos y membranas dependientes de CHP1 a través de su capacidad para estimular la unión de CHP1 a microtúbulos. Componente del complejo GAIT (inhibidor de la traducción activado por interferón gamma) que media la inhibición de la traducción selectiva inducida por interferón-gamma en los procesos inflamatorios. Papel en la inmunidad innata al promover la activación NF-kappa-B inducida por TNF y la producción de interferón de tipo I, a través de la interacción con TRAF2 y TRAF3, respectivamente. Participa en eventos nucleares incluyendo transcripción, transporte de ARN, replicación de ADN y apoptosis.	Respuesta inmune humoral antimicrobiana Respuesta celular al IF- γ Proceso metabólico de la glucosa Estabilización de proteínas Regulación de la macroautofagia
P03950	ANGI_HUMAN Angiogenina	ANG	Se une a la actina en la superficie de las células endoteliales; una vez unida, la angiogenina se endocitosa y se translocaliza al núcleo. Estimula la síntesis de ARN ribosómico incluyendo el que contiene las secuencias del sitio de iniciación de 45S rARN. Escinde tARN dentro de bucles anticodónicos para producir tARN derivados del estrés de los fragmentos inducidos (tiARNs) que inhiben la síntesis de proteínas y desencadena el montaje de gránulos de estrés (SSG). La angiogenina induce la vascularización de los tejidos normales y malignos. La actividad angiogénica se regula mediante la interacción con RNH1 in vivo	Activación de la actividad de la fosfolipasa A2, C y de la protein quinasa B Angiogenesis Respuesta humoral antibacteriana y antifúngica Comunicación celular Proceso homeostático Respuesta inmune innata Regulación positiva de la fosforilación
P05451	REG1A_HUMAN Litostatina 1- α	REG1A	Podría actuar como un inhibidor de la precipitación espontánea de carbonato de calcio. Puede estar asociado con el surgimiento neuronal en el cerebro, y con la regeneración del cerebro y páncreas	Respuesta inmune humoral antimicrobiana Homeostasis del calcio Respuesta celular a la quimiocina y gastrina Regeneración hepática y pancreática Respuesta al acetilsalicilato
Q08380	LG3BP_HUMAN Proteína de unión a la Galectina 3	LGALS3 BP	Promueve la adhesión celular mediada por integrina. Puede estimular la defensa del huésped contra virus y células tumorales.	Respuesta de defensa celular Adhesión celular.
Q03154	ACY1_HUMAN Aminoacilasa 1	ACY1	Cataliza la hidrólisis de los aminoácidos N-acetilados a acetato y aminoácidos libres.	Proceso metabólico de aminoácidos celulares.

P07333	CSF1R_HUMAN Receptor del factor 1 estimulante de colonias de macrófagos	CSF1R	Proteína tirosin-quinasa actúa como receptor de superficie celular para CSF1 e IL34 y juega un papel esencial en la regulación de la supervivencia, proliferación y diferenciación de las células precursoras hematopoyéticas, especialmente los fagocitos mononucleares, como los macrófagos y los monocitos. Promueve la liberación de quimiocinas proinflamatorias en respuesta a IL34 y CSF1, y por lo tanto juega un papel importante en la inmunidad innata y en los procesos inflamatorios. Desempeña un papel importante en la regulación de la proliferación y diferenciación de osteoclastos, la regulación de la resorción ósea. Promueve la reorganización del citoesqueleto de actina, regula la formación de volantes de membrana, la adhesión celular y la migración celular, y promueve la invasión celular del cáncer. Activa varias vías de señalización en respuesta a la unión del ligando, incluyendo la ERK1/2 y la vía JNK.	Mantenimiento de la unión entre células Respuesta celular a los estímulos de citocinas Respuesta celular al receptor de factor 1 estimulante de colonias de macrófagos. Hemopoiesis. Respuesta inflamatoria Respuesta inmune Diferenciación de macrófagos y monocitos Regulación positiva de la migración y motilidad celular Regulación positiva de la producción de quimiocinas, de la actividad quinasa Regulación positiva de la fosforilización Regulación de la reorganización de la actina del citoesqueleto
P08519	APOA_HUMAN Apolipoproteína (a)	LPA	Apo(a) es el principal componente de la lipoproteína(a) (Lp(a)), con actividad proteinasa serina. Capaz de autoproteólisis. Inhibe el activador plasminógeno de tipo tisular 1. Lp(a) puede ser un ligando para megalina/Gp 330. Apo(a) puede escindirse y formar mini-Lp(a). Los fragmentos de apo(a) se acumulan en lesiones ateroscleróticas, donde pueden promover la trombogénesis. La O-glicosilación puede limitar la extensión de la fragmentación proteolítica. Se cree que la homología con el plasminógeno kringle IV y V subyace en la aterogénesis de la proteína, porque los fragmentos compiten con el plasminógeno para la unión a fibrina(ógeno).	Circulación sanguínea Proceso metabólico lipídico Transporte lipídico
P00352	AL1A1_HUMAN Aldehído deshidrogenasa1A1	ALDH1A1	Deshidrogenasa citosólica que cataliza la oxidación irreversible de una amplia gama de aldehídos a su correspondiente ácido carboxílico. Crucial para controlar los niveles de retinol y ácido retinoico, dos moléculas importantes que el exceso puede ser teratogénico y citotóxico. También oxida aldehídos resultantes de la peroxidación lipídica como (E)-4-hidroxinon-2-enal/HNE, malonaldehído y hexanal que son altamente citotóxicos.	Proceso metabólico del aldehído celular Proceso catabólico de fructosamina Proceso biosintético del ácido γ-aminobutírico Regulación negativa de la termogénesis inducida en frío Proceso metabólico del retinol
P80108	PHLD_HUMAN Fosfatidil inositol glicano-fosfolipasa específica D	GPLD1	Esta proteína hidroliza el enlace inositol fosfato en proteínas ancladas por glicanos fosfatidilinositol (ancla GPI) liberando así estas proteínas de la membrana.	Respuesta celular al colesterol Respuesta celular a los Triglicéridos (TG) Regulación negativa del proceso catabólico de los TG Regulación positiva del proceso apoptótico. Regulación positiva del proceso metabólico de la glucosa. Regulación positiva de la separación de partículas de lipoproteínas de alta densidad.

4.2.4 Análisis diferencial de las proteínas con respecto a la sobreinfección nosocomial.

Con objeto de identificar las proteínas que pudiesen considerarse como predictoras de la susceptibilidad a la sobreinfección nosocomial, se llevó a cabo un análisis similar al realizado sobre la mortalidad. El modelo de penalización Lasso seleccionó 8 proteínas cuyas abundancias se muestran en la Figura 48.

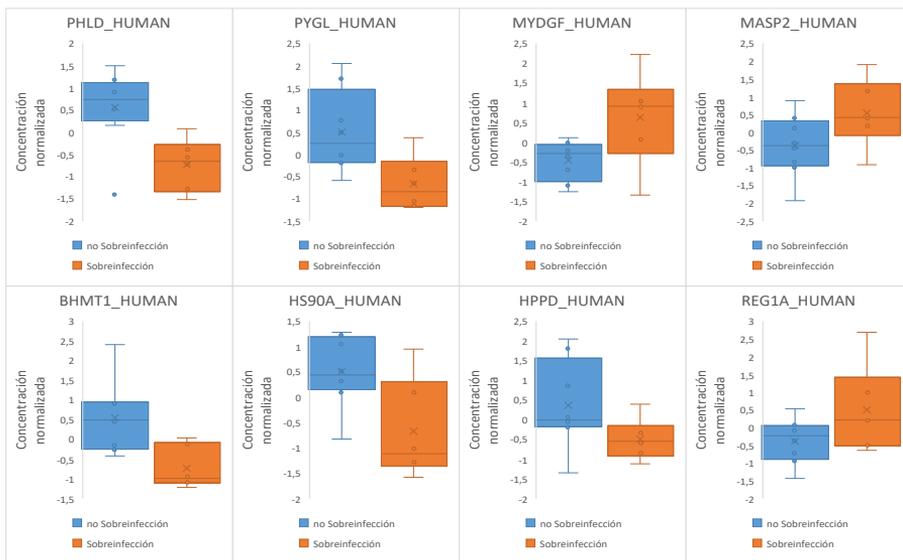


Figura 48. Abundancia de las proteínas seleccionadas que explicarían la sobreinfección nosocomial en la población estudiada.

Con las proteínas seleccionadas se obtuvo una buena agrupación de las muestras con el análisis de clústeres jerárquicos (Figura 49). Asimismo, la clasificación de las muestras con sobreinfección fue perfecta con estas proteínas, como muestra la curva ROC de la Figura 50. Las funciones de las proteínas seleccionadas se encuentran resumidas en la

Tabla 11, sombreado en gris las que aumentan en los pacientes que presentan sobreinfección nosocomial respecto a las otras que disminuyen en este mismo grupo de pacientes.

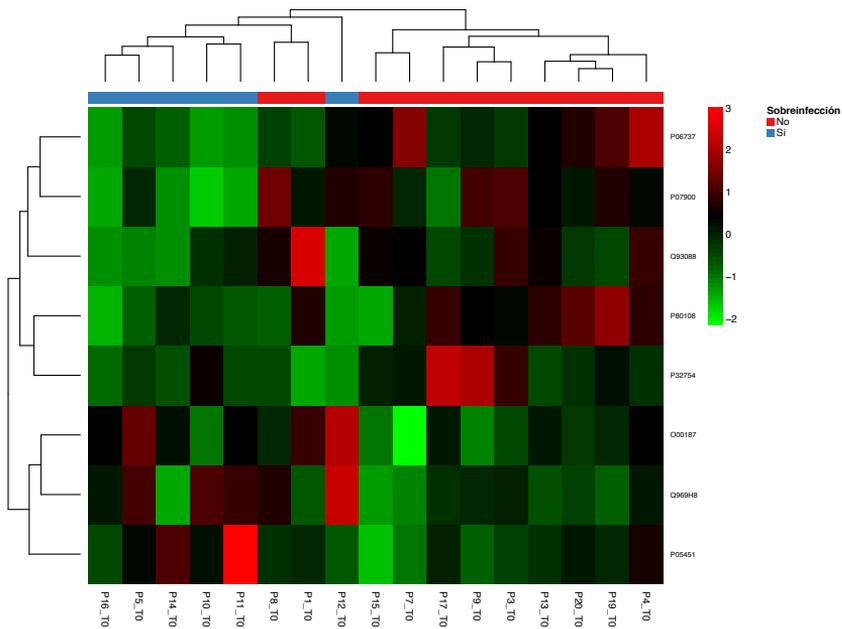


Figura 49. Mapa de calor de los clústeres de sobreinfección nosocomial.

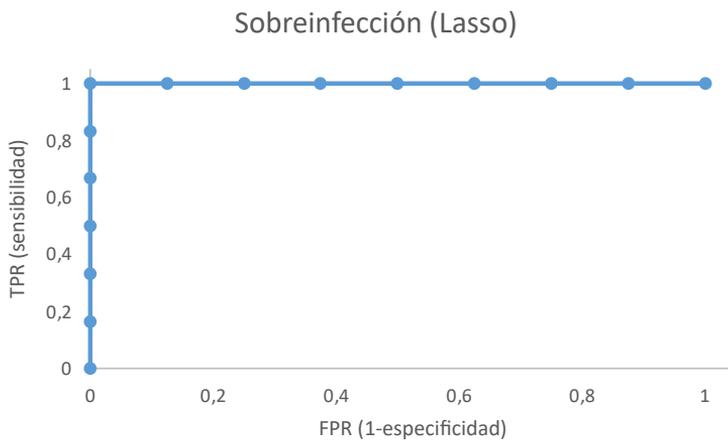


Figura 50. Curva ROC sobreinfección.

Tabla 11. Características de las proteínas seleccionadas en los pacientes con sobreinfección nosocomial.

ACC	Nombre	Gen	Función	Procesos Biológicos
P80108	PHLD_HUMAN Fosfatidilinositol glicano específico Fosfolipasa D	GPLD1	Esta proteína hidroliza el enlace inositol fosfato en proteínas ancladas por glicanos fosfatidilinositol (ancla GPI) liberando así estas proteínas desde las membranas	Respuesta celular al colesterol y a los Triglicéridos (TG) Regulación negativa del proceso catabólico de los TG Regulación positiva del proceso apoptótico. Regulación positiva del proceso metabólico de la glucosa y de la separación de partículas de lipoproteínas de alta densidad.
P06737	PYGL_HUMAN Glucógeno fosforilasa, forma hepática	PYGL	Enzima alostérica que cataliza el paso limitante en el catabolismo del glucógeno, la escisión fosforolítica del glucógeno para producir glucosa-1-fosfato, y juega un papel central en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa celular y orgánica.	Proceso catabólico del glucógeno Proceso necroptótico Proceso biosintético de 5- fosfribosa 1-difosfato
Q969H8	MYDGF_HUMAN Factor de crecimiento derivado del mieloide	MYDGF	Monocito derivado de la médula. Proteína de acción paracrina que promueve la supervivencia del miocito cardíaco y la angiogénesis adaptativa para la protección y/o reparación cardíaca después del infarto de miocardio (IM). Estimula la proliferación celular endotelial a través de una vía de señalización mediada por MAPK1/3, STAT3 y CCND1. Inhibe la apoptosis de miocitos cardíacos en una vía de señalización dependiente de PI3K/AKT (por similitud). Participa en la proliferación celular endotelial y la angiogénesis	Regulación positiva del proceso de angiogénesis Regulación negativa del proceso apoptótico Regulación positiva de la proliferación celular endotelial Regulación positiva de la cascada MAPK Regulación positiva de la proteína quinasa B
O00187	MASP2_HUMAN Lectina serina proteasa 2 de unión al manano	MASP2	Proteasa sérica que desempeña un papel importante en la activación del sistema de complemento a través de la lectina de unión a la manosa. Después de la activación por autocatalítica escisión se divide C2 y C4, lo que conduce a su activación y a la formación de C3 convertasa.	Activación del complemento vía clásica y vía lectina
Q93088	BHMT1_HUMAN Betaína- homocisteína S- metiltransferasa 1	BHMT	Participa en la regulación del metabolismo de la homocisteína. Convierte la betaína y la homocisteína en dimetilglicina y metionina, respectivamente. Esta reacción también es necesaria para la oxidación irreversible de la colina.	Proceso catabólico de la betaína Metilación de proteínas Regulación del proceso metabólico de la homocisteína
P05451	REG1A_HUMAN Litostatina 1 α	REG1A	Podría actuar como un inhibidor de la precipitación espontánea de carbonato de calcio. Puede estar asociado con el surgimiento neuronal en el cerebro, y con la regeneración del cerebro y el páncreas.	Respuesta inmune humoral antimicrobiana Cicatrización Disrupción de la pared celular en otros microorganismos Respuesta celular a la quimioquina Regeneración hepática y pancreática
P32754	HPPD_HUMAN 4 hidroxifenilpiruvat o dioxigenasa	HPD	Enzima clave en la degradación de la tirosina	Proceso catabólico de la tirosina y de la fenilalanina

P07900	HS90A_HUMAN Proteína de choque térmico HSP 90-alfa	HSP90A A1	<p>Chaperona molecular que promueve la maduración, el mantenimiento estructural y la regulación adecuada de proteínas diana específicas implicadas, por ejemplo, en el control del ciclo celular y la transducción de señales. Se somete a un ciclo funcional vinculado a su actividad ATPasa que es esencial para su actividad de chaperona. Este ciclo induce cambios conformacionales en las proteínas del cliente, causando su activación. Juega un papel crítico en la importación mitocondrial. Desempeña un papel en la regulación de la maquinaria de transcripción. HSP90 y sus co-chaperonas modulan la transcripción en tres niveles diferentes:</p> <p>1º. Alteran los niveles de estado estacionario de ciertos factores de transcripción en respuesta a varias señales fisiológicas.</p> <p>2º. Modulan la actividad de ciertos modificadores epigenéticos, como las histonas deacetilasas o las metiltransferasas del ADN, y por lo tanto responden al cambio en el medio ambiente.</p> <p>3º. Participan en el desalojo de las histonas de la región promotora de ciertos genes y así activan la expresión génica.</p> <p>Se une al lipopolisacárido bacteriano (LPS) y media la respuesta inflamatoria inducida por LPS, incluyendo la secreción de TNF por monocitos.</p> <p>Antagoniza la inhibición mediada por STUB1 de la señalización TGF-beta a través de la inhibición de la ubiquitinación y degradación mediada por STUB1 SMAD3.</p> <p>Media la asociación de TOMM70 con IRF3 o TBK1 en la membrana externa mitocondrial que promueve la respuesta antiviral del huésped.</p>	<p>Activación de la respuesta inmune innata.</p> <p>Respuesta celular al calor</p> <p>Respuesta celular a los virus</p> <p>Autofagia mediada por chaperonas</p> <p>Transporte mitocondrial</p> <p>Regulación positiva de la defensa a virus</p> <p>Regulación positiva de la producción de interferón β, de la biosíntesis de óxido nítrico, de la fosforilización de proteínas</p> <p>Estabilización de proteínas</p> <p>Respuesta a los antibióticos</p>
--------	---	--------------	---	---

4.2.5 Análisis funcional de las proteínas diferenciales

4.2.5.1 Proteínas diferenciales entre los grupos NoTCDE y TCDE

En el apartado 4.2.2 se emplearon distintos métodos de análisis diferencial en los que se compararon los grupos NoTCDE y TCDE. En total, se han seleccionado 49 proteínas diferenciales que son las que mejor definen los dos grupos de muestras, pues una proteína se seleccionó en ambos componentes. Las proteínas seleccionadas por Lasso están incluidas en el análisis por Elastic Net y estas, a su vez, están incluidas en las seleccionadas en el análisis PLS-DA. Excepto las proteínas seleccionadas en base al componente 2 del análisis PLS-DA, la mayor parte de las proteínas son estadísticamente diferenciales entre los dos grupos cuando se aplica una prueba *t* de *student* (Figura 51).

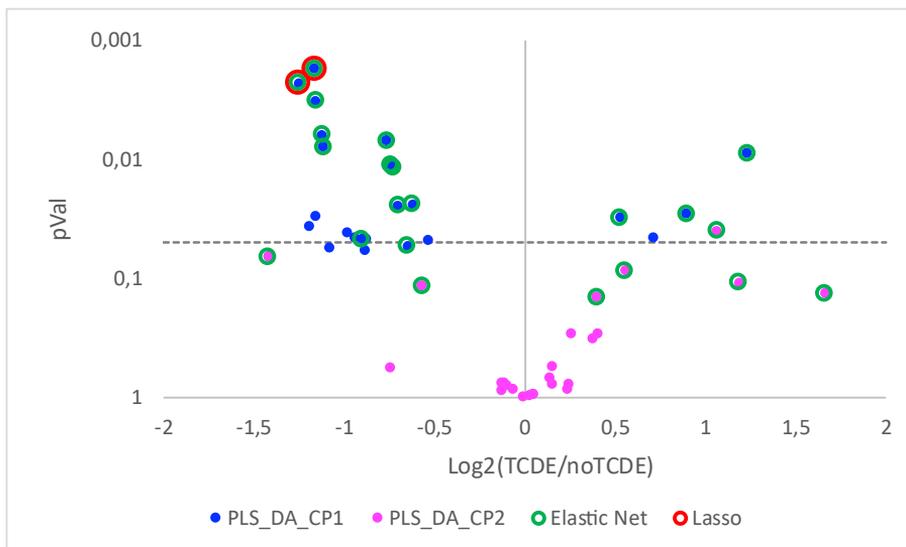


Figura 51. Análisis diferencial de las proteínas identificadas y cuantificadas en los grupos TCDE y NoTCDE por Lasso, Elastic Net, PLS-DA1 y PLS-DA2.

(Se muestra el p-Valor obtenido al comparar los dos grupos frente a la tasa de cambio en escala logarítmica. La línea discontinua horizontal corresponde a p-Valor=0,05)

El análisis funcional de las proteínas diferenciales se ha llevado a cabo utilizando las herramientas bioinformáticas STRING (versión 11.5, <https://string-db.org>) [110], DAVID (versión 6.8, <https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) [116] y PANTHER Classification System (versión 16.0, <http://www.pantherdb.org>) [117].

Con objeto de llevar a cabo una descripción de las proteínas diferenciales se realizó una anotación funcional con Panther a nivel de procesos biológicos en los que están implicadas (*Gene Ontology*), a nivel de la clase de proteína y a nivel de las rutas metabólicas en las que participan (Figura 52). Las proteínas diferenciales están implicadas en procesos metabólicos y de regulación biológica de procesos celulares. En cuanto al tipo de proteínas, los grupos más numerosos son proteínas moduladoras de la actividad de otras proteínas mediante interacción o modificación. Por último, si bien solo hay 15 proteínas con anotaciones de rutas metabólicas, la más numerosa es la de coagulación sanguínea.

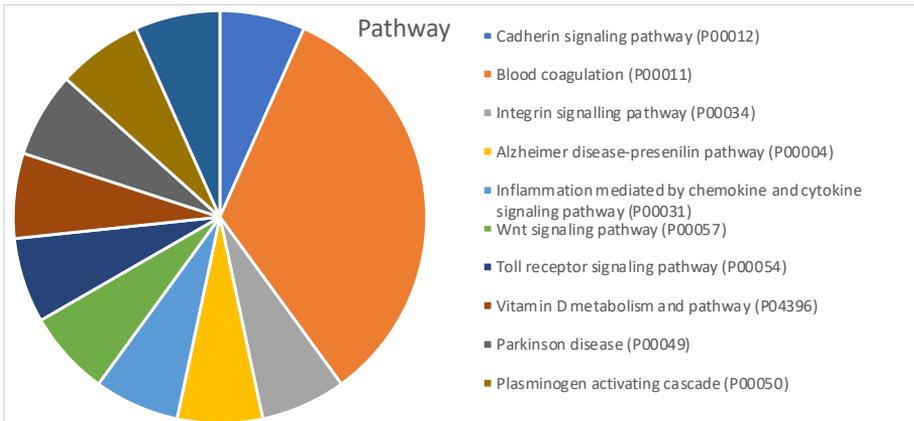
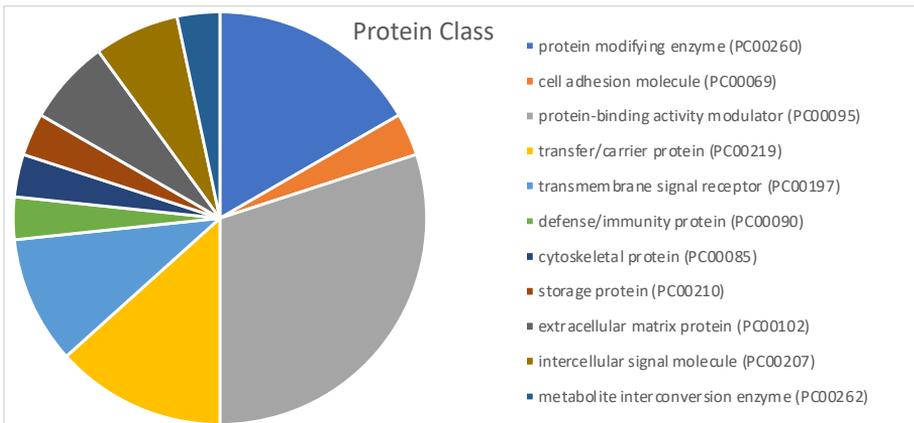
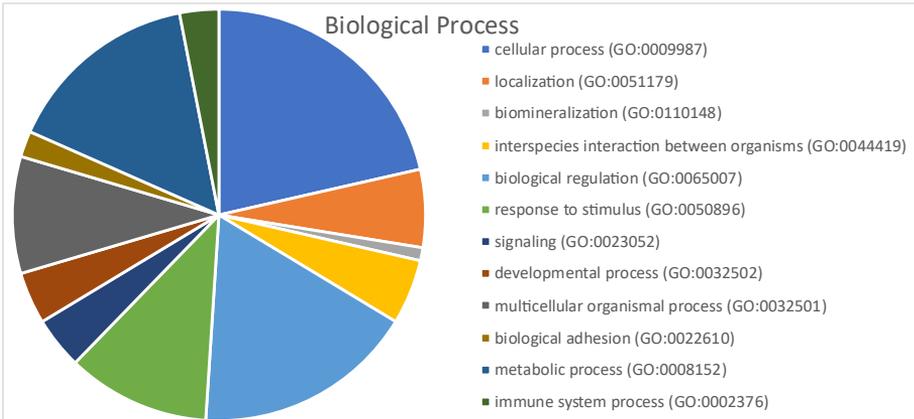


Figura 52. Anotación funcional con PANTHER. Se muestra la anotación funcional a nivel de proceso biológico (arriba), clase de proteína (medio) y ruta metabólica (abajo).

ellas. En cuanto a las funciones más relevantes se incluyen la regulación de la hemostasis y mecanismos de defensa y respuesta inmune.

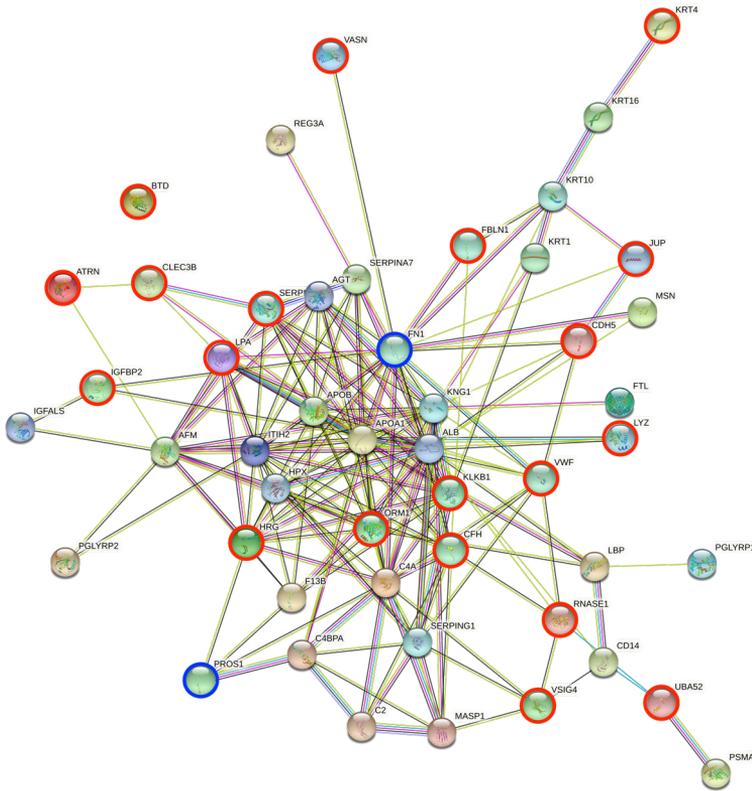


Figura 54. Relación funcional de las proteínas diferenciales obtenida con STRING.

Las proteínas seleccionadas con Elastic Net y Lasso están indicadas con círculos rojos y azules, respectivamente.

4.2.6 Correlación entre las proteínas cuantificadas con variables clínicas, analíticas, escalas de gravedad e índices pronósticos.

El análisis de regresión lineal múltiple llevado a cabo asume que las variaciones de los parámetros clínicos de interés a lo largo de la evolución de los pacientes deben ir acompañados de cambios, positivos o negativos, paralelos de ciertas proteínas. Se han analizado los índices pronósticos APACHE II y SAPS 3, la escala de gravedad SOFA total y SOFA_NR, así como los parámetros relacionados con inflamación como linfocitos, neutrófilos, NLR y las concentraciones de PCT y PCR.

Los coeficientes de correlación de Pearson encontrados para los índices pronósticos y escalas de gravedad, así como para los parámetros inflamatorios variaron entre 0,79 y 0,94 indicando que las proteínas seleccionadas explican una buena parte de la variación de los parámetros clínicos (Figura 55). Las proteínas seleccionadas para cada parámetro, así como y su contribución se muestran en la Tabla 12. La mayor parte de ellas están implicadas en mecanismos de respuesta inmune. Entre las proteínas que pierden su contribución al eliminar el componente renal de SOFA, SOFA_NR, algunas de ellas parecen estar implicadas en procesos de amiloidosis.

Para los índices pronósticos APACHE II y SAPS 3 se utilizaron únicamente los datos obtenidos a tiempo 0 ya que solo se calculan al ingreso y el número de proteínas seleccionadas fue menor, en concreto 3 proteínas en el caso de SAPS 3 y 5 proteínas en el caso de APACHE II. Con este bajo número de proteínas no es posible obtener información funcional significativa. Sin embargo, cabe mencionar que la mitad de las proteínas participan en procesos de respuesta aguda.

El análisis de regresión de los parámetros inflamatorios se realizó de manera global con todas las muestras y también con las muestras de cada grupo (NoTCDE y TCDE) por separado (Figura 56 y Tabla 13). En conjunto, el análisis funcional de las proteínas correlacionadas con los parámetros inflamatorios muestra que un gran número de ellas son proteínas relacionadas con la respuesta a estrés, mecanismos de defensa y el sistema inmunitario, como cabría esperar. El análisis global de los datos correlaciona con un mayor número de proteínas que los análisis de los grupos separados que, para la mayor parte de los parámetros, engloba la mayoría de las proteínas seleccionadas en estos últimos análisis. La excepción a esta generalización es la PCT, donde el análisis individual del grupo NoTCDE mostró una correlación con un grupo específico de proteínas no seleccionadas ni en el análisis global ni en el del grupo TCDE. Tanto el número de linfocitos como de neutrófilos del grupo TCDE muestra un enriquecimiento de proteínas relacionadas con enfermedad renal y amiloidosis que no se observa en el grupo NoTCDE. Cabe mencionar que la cadena pesada de la inmunoglobulina alfa muestra una correlación positiva con el cociente Neutrófilos/Linfocitos del

grupo NoTCDE pero negativa con el grupo TCDE. La proteína amiloide A-2 correlaciona con todos los parámetros inflamatorios excepto con la PCT. Sin embargo, la correlación es negativa con el número de linfocitos, pero positiva con el resto de parámetros. Los valores de PCR muestran una fuerte correlación con un reducido número de proteínas implicadas en la modulación de la reacción de fase aguda. La proteína amiloide A-2 es la que presenta un mayor coeficiente de correlación en todos los análisis realizados con datos de PCR. De hecho, en el caso del grupo TCDE es la única proteína seleccionada. La alfa-1- glicoproteína ácida también es seleccionada en los otros dos análisis de los datos de PCR, global y del grupo NoTCDE. En el caso del grupo NoTCDE también se selecciona una proteína adicional, la haptoglobina.

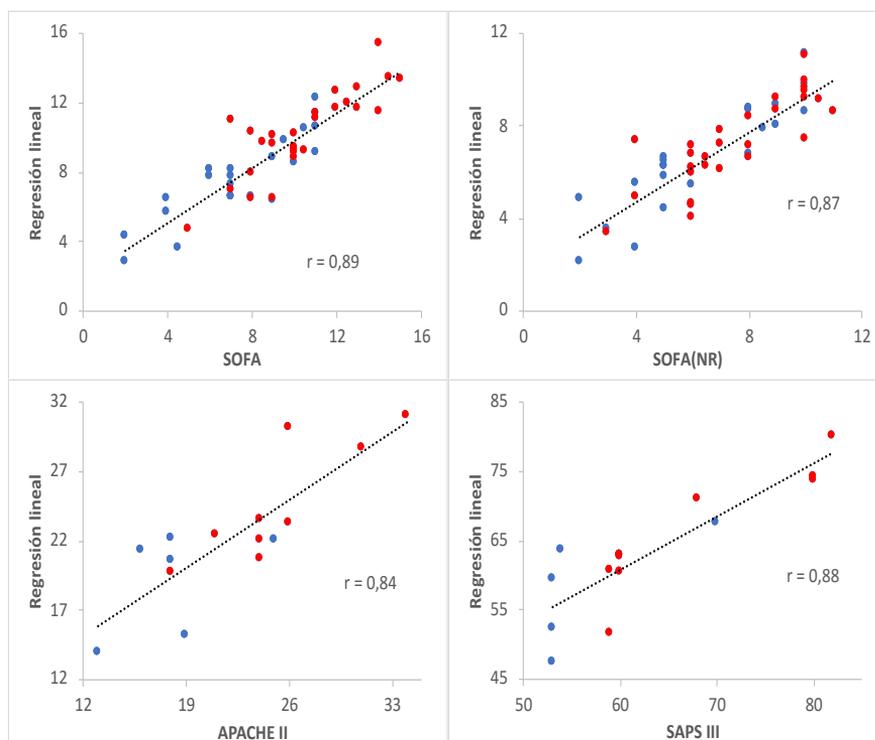


Figura 55. Análisis de regresión lineal múltiple de índices pronósticos y escalas de gravedad.

Se muestra la correlación obtenida entre los datos clínicos experimentales y los calculados.

Los parámetros y los coeficientes de correlación de Pearson se indican en cada gráfica.

Los datos correspondientes a los grupos No TCDE y TCDE se muestra en color azul y rojo, respectivamente.

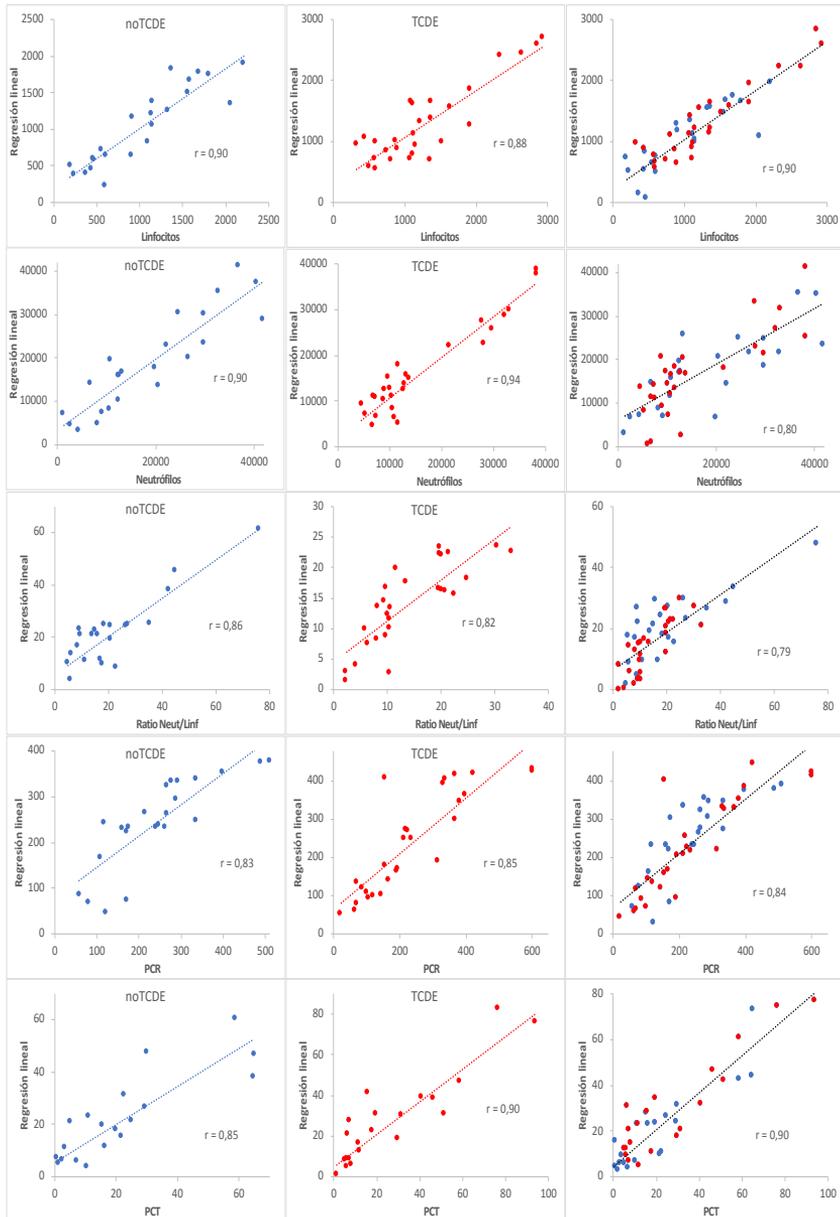


Figura 56. Análisis de regresión lineal múltiple de parámetros inflamatorios de interés.

Se muestra la correlación obtenida entre los datos clínicos experimentales y los calculados. Los parámetros y los coeficientes de correlación de Pearson se indican en cada gráfica. Los paneles de la izquierda corresponden a los análisis realizados con el grupo NoTCDE (azul), los paneles centrales corresponden al análisis del grupo TCDE (rojo) y los paneles de la derecha corresponde al análisis conjunto de todas las muestras.

Tabla 12. Proteínas seleccionadas en el análisis de regresión lineal múltiple y su contribución en los índices pronósticos y escala de gravedad

Uniprot		Scores clínicos			
ID	Acceso	SOFA	SOFA_NR	SAPS III	APACHE II
CLUS_HUMAN	P10909	-0,329	--	--	--
FA9_HUMAN	P00740	-0,109	--	--	--
IGLC3_HUMAN	P0DOY3	-0,067	-0,021	1,04	--
CO4A_HUMAN	P0COL4	-0,055	-0,201	--	--
TRFE_HUMAN	P02787	-0,024	-0,094	--	--
APOC2_HUMAN	P02655	-0,009	--	-0,81	-0,37
APOE_HUMAN	P02649	-0,002	--	--	--
CD14_HUMAN	P08571	0,088	0,263	--	--
CATA_HUMAN	P04040	0,174	0,048	--	--
RNAS1_HUMAN	P07998	0,193	0,167	--	--
PTGDS_HUMAN	P41222	0,203	--	--	--
CFAD_HUMAN	P00746	0,224	0,73	--	--
CH3L1_HUMAN	P36222	0,254	--	--	--
S10A9_HUMAN	P06702	0,304	0,2	--	--
IBP2_HUMAN	P18065	0,401	--	--	--
F16P1_HUMAN	P09467	0,408	0,11	--	--
PON1_HUMAN	P27169	--	-0,249	--	--
TSP4_HUMAN	P35443	--	-0,09	--	--
KV320_HUMAN	P01619	--	-0,075	--	--
HPT_HUMAN	P00738	--	-0,055	--	0,31
IGHM_HUMAN	P01871	--	-0,006	--	--
SAA2_HUMAN	P0DJ19	--	0,034	--	--
MYG_HUMAN	P02144	--	--	4,291	--
FINC_HUMAN	P02751	--	--	--	-0,674
TENX_HUMAN	P22105	--	--	--	-0,521
A1AT_HUMAN	P01009	--	--	--	0,185
Nº de Proteínas		16	15	3	5
Coefficiente de Pearson		0,89	0,87	0,88	0,84
Nº muestras en el análisis		51	51	15	15

Se muestran los coeficientes de regresión obtenidos de las proteínas con mayor contribución. La magnitud de los coeficientes no es comparable de un parámetro a otro porque las unidades de estos son distintas

Tabla 13. Análisis de regresión lineal múltiple de parámetros inflamatorios de interés.

UniProt						
ID	Acceso	Linfocitos	Neutrófilos	NRL	PCT	PCR
CO4B_HUMAN	P0C0L5	--/-70,2/-107,8	--/-0,25/-0,53			
CH3L1_HUMAN	P36222	--/-/-78,5		2,54/--/--		
CH10_HUMAN	P61604	-33,2/--/-71,4	-0,67/--/-0,84			
SAA2_HUMAN	P0DJ19	-51,6/-34,3/-69,5	1,23/0,39/0,54	2,33/0,95/1,93		20,8/35,8/29,7
CBG_HUMAN	P08185	--/-/-43,1	--/-/-0,8			
ALBU_HUMAN	P02768	--/-31,7/-42,6				
ALDOB_HUMAN	P05062	--/-16,7/-8,9	1,9/-0,6/--		3,08/--/--	
K1C14_HUMAN	P02533	--/-5/-2,9				
IGLC3_HUMAN	P0DOY3	--/-/-6,2			--/-/-0,41	
FAAA_HUMAN	P16930	--/-/-6,2				
A1AG1_HUMAN	P02763	1,9/--/9,9	0,96/--/0,04			9,4/--/7,7
IGHA1_HUMAN	P01876	--/64/51,1	1,49/-0,09/--	1,03/-1,29/--	--/-/-0,39	
HPT_HUMAN	P00738	--/36/58			-2,77/--/--	2,6/--/--
APOC2_HUMAN	P02655	37/--/70,8			--/-1,8/--	
TSP1_HUMAN	P07996	-117,2/--/--				
TRFL_HUMAN	P02788	-20,4/--/--				
APOA_HUMAN	P08519	14,8/--/--	--/-/0,2		--/8,43/5,47	
K2C4_HUMAN	P19013		--/-0,23/-0,83	--/-/-0,44	-2,22/--/--	
HORN_HUMAN	Q86Y23		-0,23/--/-0,45	-1,35/--/-1,41	--/0,22/0,17	
PA2GA_HUMAN	P14555		--/-/-0,42	--/-/-0,47		
SODM_HUMAN	P04179		--/-/0,01			
SAA1_HUMAN	P0DJ18		--/0,51/0,52			
S10A9_HUMAN	P06702		--/-/0,84	--/-/0,47		
G3P_HUMAN	P04406		--/2,68/1,52			
PTGDS_HUMAN	P41222		--/-0,56/--			
K1C17_HUMAN	Q04695		--/0,43/--			
FA9_HUMAN	P00740		-1,27/--/--			
ICAM1_HUMAN	P05362		0,39/--/--			
CO4A_HUMAN	P0C0L4				--/-0,6/-0,95	
TRFE_HUMAN	P02787				--/-/-0,33	
CBPN_HUMAN	P15169				--/-/-0,08	
RNAS1_HUMAN	P07998				--/-/0,95	
FRIL_HUMAN	P02792				--/-/1,96	
ACTB_HUMAN	P60709				--/-/2,17	
TIMP1_HUMAN	P01033				--/-/3,25	

CFAD_HUMAN	P00746				--/0,11/4,3	
FIBB_HUMAN	P02675				--/-1,89/--	
HBB_HUMAN	P68871				-0,48/--/--	
S10A8_HUMAN	P05109				0,56/--/--	
VWF_HUMAN	P04275			0,16/--/2		
BIP_HUMAN	P11021			1,18/--/0,92		
PSA2_HUMAN	P25787			1,27/--/0,32		
CXCL7_HUMAN	P02775			--/--/0,24		
Nº de Proteínas	7/7/14	8/9/13	7/2/9	5/6/12	3/1/2	
Coef. de Pearson	0,90/0,88/0,90	0,90/0,94/0,80	0,86/0,82/0,79	0,85/0,9/0,9	0,83/0,85/0,84	
Nº muestras en el análisis	23/28/51	23/28/51	23/28/51	21/23/44	23/28/51	

Se muestran las proteínas con mayor contribución a cada uno de los parámetros. Se indican los coeficientes obtenidos para el análisis de los grupos individuales y de manera conjunta: NoTCDE/TCDE/Global, donde "--" indica que la proteína no fue seleccionada en ese análisis. La magnitud de los coeficientes no es comparable de un parámetro a otro porque las unidades de estos son distintas.

5 DISCUSIÓN

El presente estudio de investigación profundiza en el conocimiento de los mecanismos moleculares de la sepsis, en concreto en la lesión renal aguda asociada a la sepsis y al shock séptico. La importancia radica en que, si bien la sepsis es una entidad con una elevada morbimortalidad, desafortunadamente, el pronóstico empeora si asocia lesión renal aguda pues acarrea mayores alteraciones inflamatorias y mayor mortalidad que la sepsis aislada [51]. Son entidades muy conectadas en los pacientes críticos, siendo la sepsis la causa principal de la lesión renal aguda y la lesión renal aguda una complicación común de la sepsis en estos pacientes.

La lesión renal aguda asociada a la sepsis (s-LRA) es una entidad compleja y desde el punto de vista fisiopatológico no del todo conocida. La mayor parte de las investigaciones se han realizado en modelos animales y hay que ser cautos a la hora de trasladar los hallazgos a la fisiopatología humana. Se trata de una entidad con muchas preguntas sin responder, y, por tanto, con numerosos desafíos en la medicina actual. Hasta la fecha se han utilizado diferentes opciones terapéuticas frente a la sepsis (corticoides, proteína C activada, heparina, anticuerpos monoclonales, interferón gamma, macrólidos, estimulantes del crecimiento de los neutrófilos, pentoxifilina, trombosmodulina recombinante, estatinas, β -bloqueantes, entre otras [34] sin encontrar intervenciones terapéuticas efectivas dirigidas a dianas moleculares específicas en la sepsis y, mucho menos para la s-LRA cuyo manejo sigue siendo de soporte funcional orgánico y sin grandes cambios en los últimos años. Ello se debe a que la sepsis es un síndrome no uniforme con múltiples causas sobre todo en pacientes críticos, con mecanismos fisiopatológicos, cursos evolutivos y manejos diferentes, siendo difícil que un único biomarcador pueda explicar la s-LRA y que lo más probable es que se necesiten paneles de varios biomarcadores que cubran diferentes aspectos de la s-LRA para su mejor comprensión [118].

En el presente estudio se ha utilizado la proteómica no dirigida para intentar profundizar en el conocimiento de esta entidad e identificar proteínas o grupos de proteínas con capacidad para predecir la evolución y ayudar en la toma de decisiones en pacientes con s-LRA debido a su elevada morbimortalidad.

Se realizó el análisis de las proteínas detectadas y cuantificadas en plasma de pacientes con Sepsis y/o Shock séptico asociado a LRA, mediante un método de adquisición independiente de datos (DIA) denominado SWATH [119] que utiliza un tiempo de retención de precursores definido por el usuario y una biblioteca espectral de iones fragmentados para su identificación. El método fue descrito por primera vez por Guillet y cols. [108], destacando entre sus ventajas la cuantificación de proteínas y péptidos de baja abundancia con la máxima precisión, reproducibilidad, consistencia de los datos y orientación retrospectiva mediante extracción por cromatograma [119].

Se ha detectado un panel de 22 proteínas que claramente clasifican a los pacientes que precisan TCDE y que podría ser de ayuda en decidir el momento idóneo para iniciar estas terapias en estos pacientes. En nuestro conocimiento, no existe en la actualidad un biomarcador o un grupo de biomarcadores basados en proteómica asociados con la necesidad de utilizar TCDE. Adicionalmente, en este estudio se detectó un panel de 10 proteínas que clasifica a los pacientes con s-LRA en cuanto a supervivencia y un grupo de 8 proteínas que podrían indicar qué pacientes pueden tener mayor riesgo de adquirir una sobreinfección nosocomial. También se detectaron e identificaron proteínas relacionadas con parámetros inflamatorios que podrían ser moléculas diana para dirigir futuras terapias más personalizadas, y que se discutirán a continuación.

La proteómica cuantifica grandes cantidades de proteínas en diferentes tipos de muestras biológicas pudiendo utilizar distintas tecnologías como electroforesis bidimensional, cromatografía líquida y espectrometría de masas. Es más difícil trabajar con proteínas e identificarlas que con ácidos nucleicos y genes, lo que lleva a cuantificar un menor número de proteínas en estos estudios [120]. El análisis por espectrometría de masas de plasma deplecionado y ultrafiltrado en nuestros pacientes identificó 593 proteínas, pudiendo ser cuantificadas 542 de ellas. La mayoría de trabajos publicados describen el número de proteínas diferenciales detectadas entre los grupos estudiados [97,101,121–123] sin hacer referencia al número total de proteínas identificadas y/o cuantificadas. Así, por ejemplo, Hashida y col. detectaron 429 proteínas extraídas de las membranas de pacientes con s-AKI y TCDE [124], DeCoux y col., obtuvieron 234 proteínas

plasmáticas en pacientes con sepsis [125], el grupo de Hayashi obtuvo 83 proteínas en 20 pacientes con sepsis [126], García-Obregón y col. [127] 600 proteínas en paciente sépticos, y aunque Liang y col [128] identificaron más, en 114 pacientes con sepsis, en concreto 879, por problemas en la cuantificación solo pudieron analizar 396. Nuestro estudio, cuantificó un elevado número de proteínas, 542, utilizando adquisición independiente de datos (DIA), que posee las ventajas de buena reproducibilidad, alta sensibilidad, alta precisión cuantitativa y alto rendimiento [119] en muestras plasmáticas de pacientes con s-AKI, teniendo en cuenta las eliminadas por las TCDE.

Para reducir la variabilidad experimental, se descartan las proteínas cuantificadas con menos de 3 péptidos, quedando un conjunto de 229 proteínas que se utilizaran en distintos métodos estadísticos. Nuestro primer objetivo fue conocer si los perfiles proteicos contenían suficiente información como para clasificar a los pacientes en función de si pertenecían al grupo NoTCDE y TCDE. De los métodos no supervisados utilizados, el PCA mostró una agrupación razonable de las muestras de cada grupo. Este resultado sugiere que, efectivamente, se puede llevar a cabo una clasificación de los grupos a nivel molecular analizando las proteínas plasmáticas. Para identificar estas proteínas biomarcadoras empleamos métodos estadísticos supervisados. En el análisis Lasso, dos proteínas conseguían una buena clasificación, en concreto la Fibronectina y la Proteína S dependiente de la Vitamina K, ambas con diferentes funciones, pero sobre todo relacionadas con la hemostasia, unión a la heparina y coagulación. Para evitar las limitaciones del Lasso que puede no seleccionar correctamente las proteínas con correlación significativa, se aplicó el análisis de Elastic Net, que seleccionó un total de 22 proteínas incluyendo las dos mencionadas anteriormente, y que realmente clasificaron los dos grupos, NoTCDE y TCDE. Las proteínas seleccionadas adicionalmente con este procedimiento son las siguientes: Factor complemento H, Factor de von-Willebrand, Proteína S dependiente de la Vit K, Fibronectina, Calicreína, Cadherina-5, Glucoproteína rica en histidina, Apolipoproteína A, Lisozima C, Glucoproteína ácida α -1, Queratina tipo II citoesqueleto 4, Proteína 4 con dominios de inmunoglobulina V-set, Proteína ribosómica L-40 de ubiquitina-60S, Proteína 2 de unión al factor de crecimiento insulínico (IGF), Tetranectina,

Atractina, Ribonucleasa pancreática, Fibulina-1, Vasorina, Biotinidasa, Plakoglobina de la unión y Kalistatina. Este panel de proteínas o algunas de ellas, podrían ayudar a decidir el inicio de las TCDE, pues en la actualidad existe controversia al respecto y no está bien definido cuando es el momento idóneo para iniciarlas. Actualmente, se utilizan unos criterios, conocidos también como indicaciones renales, que se asocian con un riesgo vital elevado para el paciente y que aconsejan iniciar las TCDE de manera urgente como recomiendan las guías KDIGO (101). Estos criterios, aunque ampliamente aceptados por nefrólogos e intensivistas no se apoyan en ensayos clínicos controlados. Las indicaciones actuales de TCDE son las siguientes: la hiperpotasemia refractaria al tratamiento, la acidosis grave, el edema agudo de pulmón que no responde a diuréticos, la anuria-oliguria y la sintomatología secundaria a la uremia [129]. Sin embargo, existen otras situaciones, que entrarían dentro de las indicaciones no renales, donde las TCDE pueden tener su función, pero cuando iniciarlas depende de la decisión del médico responsable del paciente en ese momento. Los defensores de la terapia “precoz” argumentan que permitiría un manejo más estricto y más rápido del balance de fluidos, de electrolitos y del equilibrio ácido-base, así como la posibilidad de modular los niveles de citocinas en los procesos inflamatorios y actuar como soporte orgánico. Los que abogan por un inicio tardío, lo justifican diciendo que muchas LRA no necesitan TRR y al aplicarlas precozmente la función renal no se recuperaría espontáneamente y que además no están exentas de riesgos al exponer a los pacientes a una circulación extracorpórea no necesaria (contacto con superficies no biocompatibles, anticoagulación, inmovilización, pérdida de antibióticos y otros solutos), además del riesgo de infecciones asociadas al catéter, complicaciones de su inserción, inestabilidad hemodinámica, mayor coste y carga de trabajo [130,131]. Actualmente disponemos de 4 ensayos clínicos sobre el inicio de estas terapias con resultados contradictorios. Solo uno de ellos incluía pacientes con sepsis y/o shock séptico y LRA [132] y se suspendió tras el primer análisis por futilidad. En 2016, se publicaron casi simultáneamente, el ELAIN [133] y el AKIKI [134]. El primero, incluyó pacientes postquirúrgicos en un solo centro y detectó una reducción significativa de la mortalidad a los 90 días con la estrategia precoz respecto a la tardía, mientras que el segundo, que incluyó pacientes médicos y quirúrgicos, y

fue multicéntrico, falló en demostrar una reducción de la mortalidad a los 60 días con la estrategia precoz. Sin embargo, no eran estudios comparables, pues los diseños eran diferentes, al igual que los criterios para definir inicio precoz y tardío, así como el tipo de pacientes incluidos, las modalidades de TRR usadas, la existencia de alteraciones metabólicas o el estadio KDIGO para iniciarlas, entre otras. Destacar también que en el estudio AKIKI, el 51 % de los pacientes del grupo tardío recibieron TCDE, eso quiere decir, que el 49 % espontáneamente recuperaron la función renal sin requerir TCDE. Al analizar separadamente los pacientes del grupo tardío que recibieron TCDE, la mortalidad fue superior en este grupo. Además, ambos estudios no tenían la potencia estadística adecuada para detectar diferencias. En 2020 se publicó el último ensayo clínico al respecto, el STARRT-AKI [135], que no detectó diferencias entre la estrategia precoz, iniciada a las 12 h de cumplir los criterios de inclusión, o tardía o estándar, en la que se incluían a los pacientes cuando presentaban criterios de las indicaciones clásicas o continuaban con LRA al menos 72 h después de la aleatorización, no siendo obligada la realización de la TCDE [83]. En este estudio, solo el 61,8 % recibieron diálisis y se desconoce qué hubiese ocurrido si se hubiesen analizado estos, como en el AKIKI.

En este sentido, el grupo de trabajo de la ADQI (*Acute disease quality initiative*) sugiere una aproximación más personalizada tras valorar el balance entre la demanda y la capacidad renal [136]. Sin embargo, no se han definido los parámetros específicos para cuantificar la demanda y la capacidad, y, por tanto, el enfoque de precisión sigue dependiendo del criterio médico y en nuestra opinión merecería una mayor evaluación. En este contexto, el panel de las 22 proteínas seleccionadas en nuestro estudio, con los dos análisis estadísticos supervisados realizados que permiten diferenciar los dos grupos evaluados podría ser de utilidad para tomar esta difícil decisión potenciando la seguridad de los pacientes. Las 22 proteínas seleccionadas con Elastic Net también se encuentran entre las proteínas seleccionadas en el primer (16 proteínas) y segundo (7 proteínas) componentes del análisis de PLS-DA. Cuando se realizó el análisis estadístico de la t de Student con estas proteínas, se observó, que 16 de ellas eran significativamente diferenciales (Figura 51). La función y su relación con la posible patología se discute a continuación.

Factor Complemento H: principal inhibidor soluble de la vía de activación alternativa del complemento. Se sabe que la activación del complemento desencadena poderosos mecanismos citotóxicos e inflamatorios, y su control es crucial para evitar el daño a los tejidos del paciente y permitir la restauración de la homeostasis inmune. El Factor complemento H previene la activación y amplificación del complemento. Algunas enfermedades con mutaciones y polimorfismos que afectan al reconocimiento del factor H asocian desregulación del complemento como por ejemplo el síndrome urémico hemolítico atípico [137]. Además, algunos patógenos o células tumorales pueden secuestrar al factor H para evadir la respuesta inmunitaria. Puede unirse a moléculas expresadas durante la apoptosis minimizando los efectos pro-inflamatorios de la activación del complemento y también se encuentra involucrado en el acúmulo de lípidos e inflamación que asocian algunas enfermedades como la arterioesclerosis o glomerulopatía C3 entre otras [138]. Los podocitos, parte importante de la barrera glomerular, pueden producir factores de complemento y factor H, según reportan estudios realizados con ratones, contribuyendo al balance local entre la activación y regulación del complemento, y este efecto modulador debería ser considerado en todas las enfermedades donde ocurre la activación del complemento a nivel glomerular [139] pudiendo tener un papel relevante en el sistema inmune innato y en la s-AKI, que habrá que investigar.

Factor de von Willebrand: papel hemostático crucial, que en entornos patológicos como la LRA promueve fenómenos trombóticos arteriales y venosos participando en la inflamación renal e inmunotrombosis, pues se ha visto que es capaz de reclutar leucocitos directamente o a través de las plaquetas además de dirigir la biogénesis de orgánulos que contienen P-selectina. Su incremento depende de las células endoteliales (140).

Proteína S dependiente de la Vitamina K: proteína principalmente con funciones anticoagulantes, pero también con un papel importante en el sistema inmune a través de su interacción con el regulador del complemento C4BP y en el sistema vascular a través de su capacidad para unirse y activar los receptores TAM en las células inmunes, lo que es importante en la fagocitosis eficiente de las células apoptóticas y la regulación de la actividad celular

macrófaga/dendrítica [141]. La Proteína S circula el 40% libre y el 60% unida al Complemento C4b, de tal manera que el complejo PS-C4BP, podría actuar como puente entre la coagulación y la inflamación, al demostrar la existencia de estos complejos en las células apoptóticas.

Fibronectina: proteína esencial de la matriz extracelular involucrada en la adhesión celular, migración, diferenciación y proliferación. Implicada en la embriogénesis, transformación maligna, angiogénesis, inflamación, fibrosis, reparación de heridas, con un importante papel en la trombosis y hemostasia [142]. Grandes cantidades de Fibronectina plasmática se depositan en los vasos lesionados y servirá de matriz de unión a otras células y proteínas plasmáticas [143], lo que podría contribuir a la disfunción microvascular observada en las células tubulares [57] colaborando en la hipoperfusión e hipoxia y, en última instancia, a la fibrosis observada en la enfermedad renal crónica. En un estudio realizado en ratones se comprobó que la utilización del péptido pUR4 inhibía la polimerización de la fibronectina evitando la fibrosis renal tras usar un modelo de lesión renal basado en la isquemia reperfusión [144].

Calicreína: proteína sérica que libera cininas, cuyo precursor es la precalicreina y la transformación ocurre ante lesiones tisulares y procesos inflamatorios. Se sintetiza en distintos tejidos, entre ellos el renal y se elimina por orina. Se ha relacionado con LRA inducida por aminoglucósidos en estudios experimentales y en humanos se ha comprobado que aumenta en la orina de pacientes con LRA, relacionándose con el aumento del tono adrenérgico durante la hipotensión arterial [145].

Cadherina 5: proteína de membrana, componente principal de las uniones entre las células endoteliales, decisiva para la integridad vascular, la permeabilidad endotelial y la angiogénesis. Durante los procesos inflamatorios se vierte a la circulación y aumenta en la sepsis, malignidad, enfermedades autoinmunes y aterosclerosis coronaria. El estudio de Yu y col. [146], detectó que pacientes con LRA y TCDE presentaban niveles significativamente más elevados de cadherina respecto a los que no requerían TCDE, al igual que los pacientes con sepsis, LRA y disfunción orgánica más grave, sugiriendo que la ruptura de las uniones endoteliales puede contribuir a la patogénesis de la s-LRA, a la mayor gravedad

y por tanto a la necesidad de TCDE. Sin embargo, nuestros resultados son diferentes, pues los pacientes con s-LRA y TCDE, presentan niveles inferiores a los pacientes con s-LRA sin TCDE. En este sentido, el estudio de Yu, aunque no especifica si la TRR que utiliza es continua, incluye pacientes con sepsis, fallo respiratorio y APACHE II > 25, y en este sentido desconocemos si los niveles elevados de cadherina en su población podrían estar en relación a una alteración en el aclaramiento en el contexto de otra disfunción orgánica. Nuestros resultados están en la línea del estudio de Ebihara [147], donde los niveles de cadherina eran inferiores en los pacientes con sepsis tratados con hemoperfusión y TCDE (manteniéndose los niveles estables antes, durante y tras la aplicación de la técnica) que en los controles, pacientes sin sepsis y con enfermedad renal crónica (en los que se comprobó que no había relación entre los niveles de cadherina y la creatinina) y el estudio de Ostrowski [148] que también publicó niveles inferiores en pacientes con sepsis atribuyéndolo en este caso, a la internalización de la cadherina existente en la superficie celular endotelial. Pensamos que será necesario realizar más estudios al respecto que aclaren el papel de las cadherinas en la permeabilidad capilar en la sepsis y en concreto en la s-LRA.

Glucoproteína rica en histidina (GRH): glucoproteína plasmática abundante con múltiples dominios que le permite interactuar con muchos ligandos incluyendo componentes del complemento como C1q, factor H, C8, C4 y C3. Regula la formación de complejos inmunes, elimina células apoptóticas, controla la invasión microbiana, la adhesión celular, angiogénesis, coagulación y progresión del factor de crecimiento [149]. Un estudio realizado en pacientes postoperados de cirugía cardíaca concluyó que podía ser un predictor de LRA, pues pacientes con LRA presentaban niveles urinarios significativamente más elevados. Los autores no pudieron relacionarla con las TCDE atribuyéndolo al escaso número de pacientes incluidos en el estudio que en estos momentos se encuentra pendiente de validar [150]. Otro trabajo la destaca como un excelente biomarcador de sepsis respecto a los biomarcadores existentes, pues los niveles plasmáticos de GRH son significativamente inferiores en los pacientes con sepsis

respecto a sin sepsis [151], con muy buena correlación con las escalas APACHE y SOFA, indicando su participación en la patogénesis de la sepsis, su gravedad y abriendo una oportunidad de un posible tratamiento tras observar en un modelo de sepsis animal que su administración era claramente beneficiosa [152].

Apolipoproteína A: los pacientes críticos suelen tener bajos los niveles de colesterol y lipoproteínas, aunque los triglicéridos se encuentran muchas veces elevados. La sepsis induce la liberación de mediadores lipídicos que controlan el metabolismo lipídico y la inflamación. Se ha estudiado el papel de esta proteína en la sepsis sobre todo en modelos animales, y recientemente en la población pediátrica con sepsis, demostrando que los niveles plasmáticos de Apolipoproteína A eran significativamente inferiores en los no supervivientes, relacionándose con algunas disfunciones orgánicas entre ellas la LRA [153]. La Apolipoproteína A reduce la inflamación y mantiene los niveles de colesterol-HDL que están disminuidos en la sepsis, preservando los riñones como quedó demostrado en el estudio de Moreira realizado en ratones [154], donde la HDL y la lipoproteína A evitaban la disfunción de las células endoteliales. En un estudio experimental reciente se comprobó que en la LRA inducida por contraste radiológico se alteraban los procesos energéticos y de estrés oxidativo en las células endoteliales del cordón umbilical y que la Apolipoproteína A mejoraba la disfunción celular endotelial, abriendo una nueva puerta de investigación en este sentido [128].

Lisozima C: proteína liberada por leucocitos, macrófagos y células inflamatorias, que se ha relacionado con depresión miocárdica y vasodilatación en modelos caninos de shock séptico, fundamentalmente por generar peróxido de nitrógeno y depositarse e interactuar con los fosfolípidos de la capa muscular lisa a nivel vascular. Se ha comprobado que también se deposita en los túbulos renales y que puede generar mediadores inflamatorios a ese nivel perpetuando la LRA, aunque debe interpretarse con cautela al tratarse de modelos animales [155]. En

nuestros pacientes con TCDE hay un aumento significativo de esta proteína, lo que iría a favor de lo comentado previamente.

Proteína ribosómica L-40 de ubiquitina-60S: una de las proteínas más abundantes en la orina de pacientes con síndrome nefrótico [156]. Regula de manera negativa el fenómeno de apoptosis.

Tetranectina: proteína secretada por células mieloides, con funciones no muy conocidas y hasta hace poco se desconocía su participación en la sepsis. El grupo de Cheng realizó una investigación con un modelo animal observando que, aunque los niveles de tetranectina eran similares en ratones con sepsis y con inflamación estéril, la supervivencia mejoraba al incrementar los niveles de esta proteína. In vitro, vieron que se unía a la HMGB1, favoreciendo la piroptosis de los macrófagos. Este proceso correctamente regulado es un mecanismo de defensa que puede minimizar el daño tisular. Sin embargo, si está desregulado, contribuye a la fase hiperinflamatoria de la sepsis e incluso podría promover la inmunosupresión por depleción de las células inmunes necesarias para el aclaramiento de patógenos. La piroptosis de los macrófagos puede contribuir a la propagación de la inflamación y a una inefectiva eliminación de los patógenos [157].

Atractina: proteína con alta expresión en algunas células como las renales, hepáticas y pancreáticas. Se expresa en las células T en reposo y cuando se activan se induce la movilización y su liberación. Ayuda en la formación de complejos inmunoreguladores, directamente a través de la interacción entre monocitos y células T, o induciendo o regulando los niveles de citocinas quimiotácticas que inducen el movimiento de las células T hacia las células adherentes [158].

Ribonucleasa pancreática: proteína que forma parte de la superfamilia RNasa A, enzimas que participan en varios procesos fisiológicos, desde el procesamiento alternativo del ARN hasta la angiogénesis. Se ha descrito que tienen potencial terapéutico en procesos oncogénicos, actividad antiviral directa y potencial de activar células del sistema inmune innato induciendo su maduración y la producción de citocinas pro-inflamatorias.

Vasorina: glucoproteína transmembrana con alta expresión a nivel de aorta en humanos en comparación con niveles moderados en riñón, hígado y placenta. También se ha detectado en las células del músculo liso vascular. Identificada como potencial biomarcador en nefropatías graves como la nefropatía por IgA, nefropatía por membrana basal y nefropatía diabética [159]. En esta última, está más elevada que en pacientes diabéticos sin nefropatías. También se ha utilizado como biomarcador tumoral al estar relacionada con la migración/diferenciación celular. Sin embargo, actualmente se desconoce la localización celular exacta a nivel renal, abriendo vías de investigación adicionales.

Biotinidasa: el déficit de biotinidasa es un trastorno hereditario autosómico recesivo. La biotinidasa recicla la vitamina biotina, una coenzima esencial para la función de cuatro carboxilasas dependientes de la biotina. Se asocia con alteraciones secundarias en el metabolismo de los aminoácidos, carbohidratos y ácido grasos.

Plakoglobina de la unión: proteína relacionada con el reordenamiento del citoesqueleto a nivel de los podocitos. Forma parte del sistema de adhesión cadherina- catenina.

Así pues, de las 16 proteínas comentadas, 13 se encuentran reguladas a la baja en el grupo TCDE y 3 al alza respecto al grupo NoTCDE. Aunque se desconoce el papel de alguna de ellas, la mayoría participan en el sistema inmune y en mecanismos de defensa y sus niveles más bajos en el grupo TCDE que tiene peor pronóstico podría apoyar la teoría que la s-LRA sería más grave desde el punto de vista molecular en este grupo y por dicho motivo precisar TCDE. Algunas de las otras proteínas que disminuyen en este grupo respecto al NoTCDE, tienen funciones claramente anti-inflamatorias como el Factor Complemento H, la Apolipoproteína A y la Proteína S dependiente de la vitamina K, lo que generaría un desbalance entre los mediadores pro y anti-inflamatorios, favoreciendo la inflamación. El Factor de Von Willebrand con funciones inflamatorias, entre otras, se encuentra disminuido en el grupo TCDE, lo que iría en contra de lo mencionado previamente. Sin embargo, este factor puede favorecer la liberación por otras células de P-selectina, una proteína con propiedades anti-inflamatorias y, por tanto, al estar disminuido el Factor de Von Willebrand, no se

generaría tanta P-selectina promoviendo de esta manera la inflamación. Por otra parte, 2 de las 3 proteínas que se encuentran más elevadas en este grupo, como la Lisozima C y la Ribonucleasa pancreática, presentan funciones claramente pro-inflamatorias. En este sentido, es evidente que las proteínas alteradas en el grupo TCDE claramente se relacionan con una situación más inflamatoria que el grupo NoTCDE. Además, otras proteínas con funciones en el aclaramiento de patógenos, apoptosis y piroptosis como la Glucoproteína rica en histidina y la Tetranectina también disminuidas en el grupo TCDE, podrían indicar que el proceso resolutivo del cuadro fuese más lento y esto también iría a favor del uso de estas terapias.

Pensamos que el panel de proteínas detectado en nuestro trabajo puede ayudar a decidir junto a datos clínicos y analíticos, el momento idóneo para iniciar estas terapias en estos pacientes, lo que mejoraría la seguridad a distintos niveles (paciente, profesional e institucional), si se confirman los resultados tras su validación en una nueva cohorte de pacientes, quedando por definir si se utilizan las 16 proteínas o un porcentaje de ellas, eligiéndolas en función del grado de participación o implicación según lo comentado previamente o bien aleatoriamente como hacen otros autores [160] en sus procesos de validación.

Otro hallazgo de interés de nuestro estudio, es la identificación de un grupo de 10 proteínas que clasifica a los pacientes con sepsis y shock séptico con LRA en cuanto a la supervivencia, estando 7 de ellas más elevadas en supervivientes (Glucógeno fosforilasa, Gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa, Fosfatidil inositol glicano-fosfolipasa específica D, Apolipoproteína A, Aldehído deshidrogenasa1 A1, Aminoacilasa 1, Proteína de la unión a la galactenina 3) y 3 más disminuidas (Angiogenina, Litostatina 1- α , Receptor del factor 1 estimulante de colonias de macrófagos) respecto a los no supervivientes. Las 7 reguladas al alza participan en procesos metabólicos relacionados con el glucógeno, aminoácidos celulares, desregulación lipídica, repuesta inmune y defensa celular, y en procesos de necroptosis, macroautofagia y apoptosis, procesos importantes para la supervivencia celular y para el aclaramiento de sustancias tóxicas y células dañadas. Las 3 proteínas reguladas a la baja participan en procesos de inmunidad innata, angiogénesis, respuesta celular a citocinas y

respuesta inflamatoria entre otras. Estos resultados son novedosos dado que, hasta la fecha, en trabajos equivalentes se ha relacionado la supervivencia en pacientes con sepsis o shock séptico respecto a pacientes sin sepsis, mientras que nuestro grupo presenta un panel de proteínas diferencial entre supervivientes y no supervivientes en pacientes con s-LRA. El primer estudio realizado utilizando aproximaciones ómicas en pacientes sépticos para caracterizar perfiles proteómicos diferenciales entre supervivientes y no superviviente fue el de Kalenka y col. [99], detectando en 18 pacientes con sepsis y/o shock séptico, 7 proteínas diferenciales entre supervivientes y no supervivientes, aunque solo identificaron 6. Dos de ellas más elevadas en supervivientes relacionadas con la activación de la vía alternativa del complemento, sugiriendo los autores, que el sistema inmune era más competente, la Haptoglobina con propiedades anti-inflamatorias y la Clusterina que estaría involucrada en el aclaramiento de sustancias tóxicas. De hecho, los niveles bajos de Haptoglobina en pacientes sépticos se asociaron con un aumento de la mortalidad [161]. Otro trabajo, realizado en sepsis, detectó 234 proteínas, 54 únicamente en supervivientes y 43 en no supervivientes. Las proteínas de los supervivientes estaban asociadas a 6 vías, principalmente cascada de coagulación, del complemento y moléculas de adhesión celular. Curiosamente, tanto los supervivientes como los no supervivientes usaron proteínas de la cascada de complemento y coagulación, pero las proteínas identificadas fueron diferentes en cada grupo. Por ejemplo, la antitrombina III y el factor de complemento VIII aumentaron en los no supervivientes y son parte de la vía intrínseca, mientras que el inhibidor del factor tisular como el factor de complemento V, aumentaron en supervivientes y forman parte de la vía extrínseca, lo que sugiere que, dentro de las vías comunes, utilizan diferentes proteínas para obtener resultados directos [162]. Los supervivientes del estudio de Triantafilon [121] realizado en 25 pacientes con sepsis tenían niveles más elevados de Apolipoproteínas (A-I, A-IV, D), Albúmina, fragmentos de LDL, Tranferrina y Holotransferrina y el estudio de Langley [163] realizado en pacientes con neumonías adquiridas en la comunidad mostró en supervivientes 16 y 40 proteínas diferentes al ingreso y a las 24 horas de evolución respectivamente, también implicadas en la inflamación, mientras que los no

supervivientes, tenían 56 proteínas diferenciales al ingreso y 27 a las 24 horas, relacionadas con el complemento, trombolisis y transporte de ácidos grasos. Más recientemente, el grupo de Hayashi N y col. [126] identificó 49 proteínas, siendo tres de ellas (Hemoglobina $\beta 1$ y $\beta 3$, Haptoglobina y Ceruroplasmina) las que presentaron cambios más pronunciados durante la evolución, sobre todo descensos significativos en el grupo de no supervivientes mientras que, los supervivientes, mostraron niveles más estables, sin cambios importantes. Sin embargo, el trabajo de García-Obregón, detectó 10 proteínas desreguladas más abundantes en pacientes con sepsis relacionadas con la activación de la respuesta inmune, respuesta inflamatoria y respuesta a heridas, sin encontrar diferencias entre supervivientes y no supervivientes [160]. Aunque la mayoría de estudios coinciden en que las proteínas más implicadas en la supervivencia participan en los procesos de inflamación y coagulación, nuestro estudio también identifica vías relacionadas con procesos energéticos y de supervivencia celular en supervivientes, y aunque a priori parece lógico habrá que profundizar en este aspecto para conocer mejor el papel que juegan en este proceso en futuros estudios.

De la misma manera, se detectó un grupo de 8 proteínas que identificarían a los pacientes con s-LRA con riesgo de presentar sobreinfección nosocomial. Se trata de un hallazgo importante, pues el diagnóstico de infección nosocomial en pacientes críticos es difícil porque tienen el sistema inmune desregulado por la patología que motivó su ingreso y por los diferentes procedimientos invasivos y tratamientos a los que están sometidos, siendo el diagnóstico precoz difícil y al mismo tiempo fundamental para iniciar el tratamiento antibiótico lo antes posible y mejorar el curso de la enfermedad. De hecho, una actualización de las guías de la *Surviving Sepsis Campaign*, recomienda la administración de antibiótico en la primera hora del diagnóstico ([164]. Si en los pacientes críticos el diagnóstico precoz es primordial, el reto en los s-LRA con TCDE es mayor, pues, aunque los reactantes de fase aguda pueden aumentar, lo hacen de forma diferente y no tan pronunciada en el grupo TCDE respecto al NoTCDE y, además, todos presentan hipotermia, una de las complicaciones de la terapia, por lo que guiarse por datos clínicos y analíticos podría retrasar el diagnóstico y secundariamente el tratamiento y pronóstico. Por ello, disponer de marcadores

que ayuden a realizar el diagnóstico precozmente sería fundamental en la evolución de estos pacientes. De las 8 proteínas identificadas, 3 aumentan y 5 disminuyen en los pacientes del grupo sobreinfección nosocomial. En este sentido el grupo de Paugam-Burtz, en pacientes postoperados de trasplante hepático, en los que la sepsis es una causa importante de mortalidad postoperatoria y el diagnóstico difícil, al estar tratados además con fármacos inmunosupresores, investigaron la presencia de sepsis por criterios clínicos y cultivos microbiológicos al 5º día de ingreso junto al estudio proteómico de muestras plasmáticas el mismo día. Incluyeron 31 pacientes con infección y 30 sin infección, y detectaron 23 proteínas que se expresaban de manera diferente entre los pacientes con y sin sepsis. La combinación de 5 proteínas permitió hacer el diagnóstico de sepsis con un área bajo la curva de 0,72, sin embargo, no llegaron a identificarlas [98].

De las 3 proteínas que aumentan, dos están relacionadas con infección, la Lectina sérica proteasa 2 de unión al manano y la Litostatina 1- α . La primera participa en la activación de la vía clásica del complemento y de la lectina, mientras que la segunda participa en la respuesta inmune humoral antimicrobiana y en la disrupción de la pared celular, así como en la respuesta celular a la quimiocina. Sin embargo, el factor de crecimiento derivado de las células mieloides, es una proteína secretada por monocitos y macrófagos que promueve la reparación tisular en un modelo murino de infarto de miocardio [165]. En el plasma humano también aumenta su concentración en pacientes con infarto agudo de miocardio, y aunque también se libera por estrés celular actuando como un factor de supervivencia paracrina/autocrina con potencial terapéutico, al parecer sus homólogos se agrupan en una familia de proteínas no del todo caracterizadas [166] y habrá que determinar su papel en la sepsis y en s-LRA.

Entre las 5 proteínas que disminuyen en los pacientes con sobreinfección nosocomial, 4 participan en procesos metabólicos fundamentalmente: la Fosfatidilinositol glicano específico fosfolipada D (glicoproteína que en suero se asocia con LDL), la Glucógeno fosforilasa (participa en procesos metabólicos relacionados con el glucógeno), la Betaína-homocisteína S-metiltransferasa 1

(participa en la metilación de proteínas) y la 4 hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (que cataboliza la tirosina), mientras que la quinta, la HSP90 o proteína de choque térmico, es una chaperona que favorece el plegamiento de otras proteínas, permitiendo que adquieran su conformación tridimensional nativa y, con ello, desempeñar su función biológica. Es capaz de estabilizar proteínas en situaciones de estrés térmico y permitir que se degraden las que estén mal plegadas, evitando la formación de agregados amiloides [167]. Involucrada en una gran variedad de procesos celulares relacionados con el crecimiento celular, la reparación de ADN y la respuesta inmune en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y otras, en cáncer y en infecciones virales y bacterianas [168]. El papel exacto del descenso de esta proteína en los pacientes con s-LRA que presentarán una sobreinfección nosocomial no está claro, siendo posible que su disminución afecte a otras células y proteínas implicadas en los procesos mencionados previamente aumentando el riesgo de adquirir sobreinfecciones sobre un sistema inmune ya alterado, sin embargo, no deja de ser una hipótesis y habrá que indagar en el papel de esta proteína en este proceso.

El análisis funcional de las 49 proteínas identificadas y diferenciales entre los grupos TCDE y noTCDE (una de ellas se identificó en los dos grupos), reveló que están implicadas sobre todo en procesos metabólicos, en la regulación biológica de procesos celulares, y en la respuesta a estímulos. En cuanto al tipo de proteínas, el grupo mayoritario está constituido por proteínas reguladoras de la actividad de otras proteínas, enzimas modificadoras de proteínas, proteínas transportadoras y proteínas de señal transmembrana, y en cuanto a las rutas metabólicas, la mayoría están implicadas en la coagulación, cascada de activación del plasminógeno, inflamación mediada por citocinas y quimocinas, respuesta inmune y en el metabolismo de la vitamina D, entre otras.

Aunque varios trabajos utilizan técnicas proteómicas para estudiar proteínas diferenciales y buscar biomarcadores en sepsis [169] pocos se centran en la s-LRA como el nuestro. En cualquier caso, la mayoría utilizan modelos animales y diferentes tipos de muestras (tejidos, orina y sangre fundamentalmente). Así, Maddens y col. [170], descubrieron y validaron en ratones sépticos como

biomarcadores de s-LRA, 6 proteínas: NGAL, Gelsolina, Chitinasa urinaria 3 y 1, TRX y CHIA. El grupo de Wu, encontró la cadena ligera de miosina fosforilada 12B, proteína importante para la integridad citoesquelética en el tejido renal de ratones sépticos aumentada [171] y el de Thongboonkerd evaluó el proteoma plasmático usando un modelo porcino, identificando 27 proteínas cuyas funciones estaban relacionadas con la inflamación, la respuesta al estrés oxidativo y los componentes citoesqueléticos [172]. Trasladar estos hallazgos a modelos humanos es difícil y hay que ser precavidos. En este sentido, disponemos del trabajo realizado por Hashida y col. en 20 pacientes con LRA en UCI tratados con TCDE. Identificaron más de 350 proteínas adheridas a las membranas de los hemofiltros relacionadas con procesos metabólicos, respuesta inmune y respuesta al estrés, y en 10 pacientes que tenían s-LRA las proteínas identificadas estaban más relacionadas con procesos del sistema inmune y de adhesión biológica que en pacientes sin sepsis. Gong y col., estudiaron cambios en el proteoma sérico en pacientes con s-LRA y TCDE en las primeras 72 horas de terapia, objetivando cambios en 10 proteínas, 7 disminuían sus niveles y 3 aumentaban, que estaban relacionadas con la resolución de la inflamación, coagulación disfuncional y estrés oxidativo. En concreto, aumentaba la Apolipoproteína A-IV con características anti-inflamatorias y muy relacionada con el estado nutricional, pues sus niveles séricos son muy sensibles a la interrupción de la alimentación enteral, cayendo rápidamente a valores muy bajos durante el ayuno prolongado [173] lo que debería tenerse en cuenta ante la posible pérdida de sustratos nutricionales con las TCDE pues podría influir negativamente en el pronóstico. Las otras dos proteínas que aumentan son la Isoforma gamma A del fibrinógeno y la Ubiquitina, sugiriendo los autores que las funciones inmunes del paciente podrían estar parcialmente restauradas [101]. Sería interesante conocer la dinámica de las proteínas en los tiempos estudiados pues aportaría información sobre los cambios funcionales durante el tratamiento con las TCDE y mejoraría nuestro conocimiento fisiopatológico.

Una de las fortalezas del presente trabajo es la población de pacientes incluidos. Se decidió elegir pacientes con sepsis y/o shock séptico con LRA, al constituir un grupo con una elevada gravedad y mortalidad [174], y ser menos estudiado, con la intención de disponer de una muestra lo más homogénea posible, pues una

de las principales críticas a las múltiples investigaciones realizadas en pacientes sépticos es la heterogeneidad de los pacientes incluidos. Las características clínicas y demográficas de nuestros pacientes fueron similares a otras series publicadas en cuanto a edad y sexo [160,175] pues la mayoría fueron varones como en nuestro estudio (77,8 %) y con una edad media similar (63,9 años) [128,160,176]. Sin embargo, nuestros pacientes fueron más graves pues, aunque la puntuación en la escala SOFA y APACHE II (8,7 y 20,2 respectivamente) fue similar o ligeramente superior a la descrita en otros estudios, en los que oscila entre 6-8,2 y 17,8-19 respectivamente [128,160,176], nuestros pacientes requirieron más VMI (55,6 %), ECMO (5,6 %), noradrenalina (94,4 %) y TCDE (44,44 %) que los pacientes del estudio de Liang, que precisaron VMI el 37,3 %, vasopresores el 42,4 % y TCDE el 13,6 % [128]. Es posible que, por ello, la mortalidad a los 30 días en nuestros pacientes (22 %) sea superior a la descrita por Liang (13,6 %). Sin embargo, es ligeramente inferior a la descrita por Garzotto (28,8 %) a pesar de que el 100 % de nuestros pacientes presentaban s-LRA y solo en el 30,6 % de sus pacientes y sabemos que la mortalidad en estos es muy elevada. La mortalidad fue tres veces superior en el grupo TCDE (37 vs 10 %) aunque sin llegar a la significación estadística posiblemente por el escaso número de pacientes incluidos, pues no hubo diferencias en la clasificación de la LRA entre los grupos según los criterios KDIGO [103]. Peters y col. también describen una mortalidad en pacientes con s-LRA y TCDE significativamente superior respecto a No TCDE, 40 vs 20 % respectivamente [177]. La estancia en UCI de nuestros pacientes fue superior a la descrita por Liang posiblemente en relación a la sepsis como causa de la LRA como ocurre en el estudio de Peters. La sobreinfección nosocomial fue superior en los pacientes con s-LRA y TCDE que podríamos atribuir a la mayor estancia, sin embargo, ésta fue similar a la descrita en un estudio epidemiológico italiano sobre LRA [176].

Se eligieron muestras plasmáticas para aplicar las técnicas proteómicas, por su fácil accesibilidad y ser su recogida no muy invasiva para los pacientes. Sin embargo, el 90% del contenido proteico lo abarcan 10 proteínas, siendo necesario utilizar métodos de inmunodepleción [119] para retirar las más abundantes y tener accesibilidad a las de media y baja abundancia como hemos hecho en nuestro trabajo. Al tratarse de pacientes con LRA, muchos de ellos en

anuria, no se eligió la orina como muestra a pesar de que una de sus ventajas respecto a las muestras plasmáticas, es que carecen de proteínas de gran abundancia. Sin embargo, se recogieron muestras de ultrafiltrado de los pacientes que precisaron TCDE pues pocos estudios lo han analizado y pensamos que se podrían obtener proteínas no detectadas en plasma como ocurrió en el trabajo de Molina y col. [102].

De esta manera, los pacientes se clasifican en dos grupos, NoTCDE y TCDE, según si requieren terapias continuas de depuración extrarrenal. Ambos grupos fueron similares, excepto en el porcentaje de pacientes que precisaron VMI que fue superior en el grupo TCDE, lo que podría atribuirse a más sepsis de origen respiratorio en este grupo, aunque sin llegar a alcanzar diferencias significativas. Este grupo al ingreso fue más grave, con puntuaciones significativamente más altas en la escala de gravedad (SOFA) e índices pronósticos estudiados (APACHE II, SAPS 3). Podríamos pensar que estaría en relación con una mayor gravedad de la LRA, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los estadios KDIGO, creatinina basal, SOFA_NR y SOFA_R. Es verdad que el SOFA_NR fue ligeramente superior en el grupo TCDE, al igual que el resto de disfunciones orgánicas, pero sin llegar a alcanzar diferencias significativas. Posiblemente al sumar todas ellas, podría generar la diferencia significativa que se alcanza en la puntuación global.

Profundizando en la escala SOFA, desarrollada en 1996 por la Sociedad Europea de Medicina intensiva y validada como una escala útil para predecir la mortalidad en una gran variedad de pacientes críticos [2,21], presenta una diferencia importante respecto a otras escalas, pues permite evaluar las disfunciones orgánicas secuencialmente durante la estancia en UCI, de tal manera que cambios en la puntuación con el tiempo se asocian con resultados clínicos. Al comparar ambos grupos, el SOFA basal o al ingreso fue mayor en el grupo TCDE que NoTCDE, sin embargo, en ambos grupos, la puntuación máxima se alcanza a las 24 h de evolución, como en otros estudios, atribuyendo el empeoramiento a los tratamientos aplicados [178]. En nuestro estudio, la única diferencia entre ambos grupos fue la instauración de las TCDE, y si bien es cierto que en ambos grupos aumenta a las 24 h, es mayor en el grupo TCDE lo que podría hacer pensar

que la instauración de las TCDE en el día cero influye en la mayor disfunción orgánica al generar mayor respuesta inflamatoria. Si observamos el SOFA_{NR}, que se obtiene al no considerar la disfunción renal, lógicamente el valor es inferior en ambos grupos, pero ocurre lo mismo que con el SOFA total, empeora en las primeras 24 h en ambos grupos y a partir de ese momento comienza a mejorar aunque en el grupo TCDE lo hace más lentamente, lo que podría relacionarse con la inflamación comentada previamente pues coincide un descenso superior a 2 puntos con la retirada de las mismas, hipótesis que deberíamos contrastar con otros pacientes sometidos a estas terapias. En este sentido, al décimo día de evolución, el SOFA total y el SOFA_{NR} seguía siendo superior a 2 puntos en el grupo TCDE, a pesar que en la mayoría la terapia estaba retirada, y esto podría indicar que la disfunción orgánica persistía. De la misma manera, tanto el SOFA total como el NR medio y máximo, fue superior, aunque sin diferencias significativas en el grupo TCDE y aunque el SOFA medio y máximo se han relacionado con mayor mortalidad [21], en nuestro trabajo no fue así, lo que podría ser atribuido una vez más a los pocos pacientes incluidos. El delta SOFA también ayuda a valorar la evolución de las disfunciones orgánicas [21], y aunque de Grooth [179] recomienda utilizar este parámetro al considerarlo más fiable y consistente para ver los efectos de los tratamientos sobre la mortalidad, en nuestro estudio, observamos un descenso del delta SOFA al tercero, quinto y séptimo día, indicando una mejoría en las disfunciones orgánica, pero siguiendo la misma evolución que el SOFA total, por lo que pensamos que no aporta más valor pronóstico ni relevante, y que tan solo corrobora la puntuación evolutiva obtenida en el SOFA total.

La duración de la s-LRA fue significativamente superior en el grupo TCDE, pero esta diferencia se perdió, al retirar un paciente que presentó la LRA más prolongada (73 días). Tampoco se alcanzaron diferencias entre los grupos en cuanto a la resolución del shock, entendido bien como reducción del 50% de las catecolamina o retirada de las mismas o normalización del lactato, como cabía esperar en el grupo TCDE según la literatura revisada [88], pues estas técnicas eliminan interleucinas y otras proteínas [89], y disminuyen la Tª, lo que mejoraría la hemodinámica y permitiría disminuir la dosis de vasopresores y reducir sus

efectos adversos, pero no se apreció en nuestros pacientes, posiblemente por el tamaño de la muestra.

Con respecto a los parámetros bioquímicos relacionados con la sepsis (Leucocitos, Neutrófilos, Linfocitos, NLR y PCR), no se modifican con las TCDE de manera significativa, pero sí desde el punto de vista temporal o evolutivo, lo que estaría más en relación con la evolución de la propia sepsis. Los leucocitos y en concreto los neutrófilos están involucrados en la respuesta inmune innata mientras que los linfocitos en la respuesta inmune adaptativa, siendo habitual que los primeros aumenten a medida que progresa la inflamación y los segundos que disminuyan, si bien a veces lo hacen tardíamente. El cociente neutrófilo/linfocito (NLR) se ha propuesto como un indicador de inflamación sistémica más fiable que el valor absoluto de neutrófilos y/o linfocitos, así Huang [180] reportó que, a mayor cociente de NLR al ingreso, peor pronóstico y mayor mortalidad. De la misma manera Lorente concluyó que debería estandarizarse su determinación para predecir la mortalidad en la sepsis y que su análisis al 1º, 4º y 7º día de evolución ayudaría a estimar el pronóstico [181]. En nuestro estudio, no se han encontrado diferencias entre los grupos en cuanto a parámetros de inflamación se refiere. Sin embargo, observamos que los leucocitos y los neutrófilos aumentan en las primeras 24 h al igual que ocurre con la escala SOFA, pero en el grupo TCDE, el ascenso y el descenso posterior es más lento, al igual que ocurre con los linfocitos. El NLR presenta un curso similar, siendo mayor al 3º día en el grupo TCDE, que son los que tienen peor pronóstico (mayor mortalidad y sobreinfección nosocomial). La PCR sigue la misma evolución.

Con otros parámetros analíticos (Vitamina D, hemoglobina y ácido láctico) sucede lo mismo, no se detectan cambios con la TCDE, pero sí desde el punto de vista evolutivo, es decir, se observan variaciones entre los valores al ingreso, 24 y 72 horas, lo que estaría más en relación con la evolución de la enfermedad.

Desde el punto de vista electrolítico, con el sodio, potasio y cloro, no se modifican ni con las TCDE ni con la evolución. Sin embargo, no ocurre lo mismo con el fósforo, magnesio y calcio iónico. El fósforo, se modifica significativamente con la evolución de la sepsis y con la TCDE, alcanzando el descenso más

significativo a las 24 h de la terapia. En nuestros pacientes, la hipofosfatemia fue la alteración más frecuente (62,5 %), coincidiendo con lo publicado con una prevalencia que oscila entre 10-65 % [182,183]. Por lo tanto, es importante realizar controles durante la terapia para evitar complicaciones derivadas de la misma, pues el fósforo interviene en muchos procesos vitales, sugiriendo una primera determinación en las primeras 24 h. El magnesio por el contrario se altera significativamente por las terapias a partir de las 72 h y aunque es el trastorno menos frecuente, en nuestros pacientes del 12,5 % mientras que es inferior al 3% en otros estudios, sería recomendable realizar un control al menos a las 72 h de terapia. Con el Calcio iónico, se producen cambios significativos tanto con la evolución como con el uso de las técnicas. En el grupo TCDE aumenta a partir de las 24 h posiblemente en relación con el descenso del fósforo, pues otra posibilidad que podríamos pensar es que estuviese en relación con citrato trisódico utilizado como anticoagulante regional. Sin embargo, en nuestro estudio en el 75% de los casos se utilizó heparina sódica como anticoagulante para mantener la permeabilidad del circuito y solo en el 12,5 % se utilizó el citrato trisódico, a pesar de las recomendaciones actuales de las guías KDIGO [103] que sugieren la utilización del citrato como anticoagulante regional como primera elección, pues en ese periodo del estudio se estaba introduciendo en nuestra unidad, y se siguió el protocolo vigente.

Todas estas alteraciones electrolíticas detectadas con las TCDE, al igual que la hipoproteinemia y la hipotermia, formarían parte de las complicaciones asociadas a las mismas o "dialytrauma", término descrito y acuñado por el grupo de Maynar [184], que habitualmente están en relación con la intensidad de tratamiento y con la composición de los líquidos de reposición o sustitución. Alteraciones que pueden ser muy peligrosas si no se reconocen y corrigen a tiempo. Para ello, Maynar y col, sugirieron la utilización del listado de verificación del dialytrauma que indicará tanto los potenciales problemas que podemos encontrar como sus posibles soluciones. Estos autores abogan por una dosis dinámica según la situación clínica y analítica del paciente con lo que estamos completamente de acuerdo.

En relación a los antibióticos, pilar fundamental en el tratamiento de la sepsis, estas terapias pueden aumentar su eliminación en función del PM, de la unión a proteínas, del volumen de distribución y del tratamiento aplicado, lo que implicaría un descenso en la concentración plasmática de antimicrobianos, pudiendo contribuir a la mayor mortalidad que experimentan los pacientes con s-AKI y TCDE [185].

Sería deseable monitorizar la situación inmunológica de los pacientes ingresados en las UCI, pero no es habitual por su dificultad. En la mayoría de hospitales, al menos de manera cuantitativa se pueden obtener inmunoglobulinas, proteínas del complemento y linfocitos T (CD4 y CD8) en sangre periférica [186]. Zhang y col., encontraron que en los pacientes con shock séptico existía un incremento en la apoptosis de linfocitos T CD4, CD8 y linfocitos B CD19 [187] y de las células NK con la consecuente disminución de IF- γ [188]. En nuestros pacientes, tanto los linfocitos T CD3, CD4, CD8, linfocitos B CD19, y las células NK CD 16, se encuentran con niveles mínimos al ingreso y a medida que evoluciona la sepsis sus cifras aumentan, alcanzando valores máximos al 5º día de evolución. Sin embargo, al comparar ambos grupos, observamos que en el grupo con peor pronóstico (TCDE), aumentan al 3º día, volviendo a disminuir al 5º día a valores similares o inferiores a los de ingreso. No se pudo realizar ningún test estadístico para comparar ambos grupos debido a las escasas muestras disponibles, por lo que es difícil saber en este punto, si las TCDE pueden afectar o no el estado inmunitario y habrá que confirmarlo en un nuevo estudio.

Por último, se analiza la correlación existente entre las proteínas y la respuesta inflamatoria con la escala de gravedad (SOFA y SOFA_NR), índices pronósticos (APACHE II, SPAPS 3) y parámetros inflamatorios (neutrófilos, linfocitos, NLR, PCT y PCR) observando coeficientes de correlación muy altos, entre 0,79 y 0,94. Detectamos que para describir los datos de la escala SOFA es necesario un mayor número de proteínas que para los índices pronósticos SAPS 3 y APACHE II, lo que indica una mayor dispersión en los datos que podría reflejar una dependencia de un mayor número de factores o procesos biológicos. En cuanto a las proteínas implicadas, la mayor parte de ellas participan en mecanismos de respuesta inmune. Al eliminar el componente renal del SOFA (SOFA_NR), algunas de las

proteínas que pierden su contribución parecen estar implicadas en procesos de amiloidosis, lo que sugiere que la formación de agregados proteicos podría contribuir al daño renal. Resulta interesante destacar que la proteína Prostaglandina-H2 D-isomerasa contribuye al SOFA total pero no al SOFA_NR siendo una marcadora del filtrado glomerular [189] con una excelente correlación con la creatinina, cistatina C y $\beta 2$ microglobulina [190]. Se trata de una glucoproteína de bajo PM implicada en una variedad de procesos fisiológicos importantes, incluyendo agregación plaquetaria, vasodilatación, inflamación y adipogénesis. Varios estudios han documentado una fuerte asociación entre esta proteína y diversas enfermedades como la enfermedad renal terminal, enfermedad cardiovascular y muerte en diferentes poblaciones de pacientes. Además, sus niveles urinarios y séricos pueden proporcionar un indicador sensible de daño renal en diabetes mellitus e hipertensión arterial [189]. Recientemente, se ha visto que es buena marcadora para el diagnóstico de LRA en pacientes con pancreatitis aguda [191]. Otra proteína que se correlaciona con el SOFA y no con el SOFA_NR es la Apolipoproteína C2 que también se ha asociado a enfermedad renal [192]. Esta Apolipoproteína participa en el metabolismo lipídico y forma parte del colesterol-HDL que posee una asociación inversa con el riesgo cardiovascular, sugiriendo al asociarse negativamente con la escala SOFA que disminuiría el efecto cardioprotector, anti-inflamatorio y antioxidante del colesterol-HDL.

Las dos proteínas con la correlación más positiva con la escala SOFA son la Proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina con funciones en la regulación del crecimiento y en la proliferación de las células T activadas y la Fructosa 1,6 bifosfatasa1 que participa fundamentalmente en el metabolismo de los carbohidratos y gluconeogénesis.

Para los índices pronósticos APACHE II y SAPS 3 solo se seleccionaron 5 y 3 proteínas respectivamente, quizá al utilizar menos muestras y datos por calcularse solo al ingreso o porque reflejan el estado de un menor número de procesos biológicos. Y, aunque no se pudo obtener información funcional significativa por dicho motivo, cabe mencionar que la mitad de las proteínas participan en procesos de respuesta aguda y que la Apolipoproteína C2 es la

única proteína seleccionada que se correlaciona negativamente con las tres escalas de gravedad (SOFA, APACHE II, SAPS 3), por lo tanto, podría ser una biomarcadora de la gravedad de estos pacientes, lo que habrá que confirmar en próximas investigaciones.

El análisis funcional de las proteínas correlacionadas con los parámetros inflamatorios muestra que un gran número de ellas son proteínas relacionadas con la respuesta a estrés, mecanismos de defensa y el sistema inmunitario, como cabría esperar. De la misma manera, el análisis global comprende un mayor número de proteínas que los análisis de los grupos por separado (NoTCDE vs TCDE) para la mayor parte de los parámetros, y contiene a la mayoría de las proteínas seleccionadas en los análisis de los grupos. La excepción a esta generalización es la PCT, donde el análisis individual del grupo NoTCDE mostró una correlación con un grupo específico de proteínas no seleccionadas ni en el análisis global ni en el del grupo TCDE y la que correlaciona más positivamente es la Fructosa bifosfonato aldolasa B que participa en procesos metabólicos sobre todo en el metabolismo de carbohidratos. Tanto el número de linfocitos como de neutrófilos del grupo TCDE muestra un enriquecimiento de proteínas relacionadas con enfermedad renal y amiloidosis que no se observa en el grupo noTCDE. En concreto la proteína sérica Amiloide 2, se correlaciona muy negativamente con los linfocitos (más en el grupo NoTCDE que TCDE), mientras que lo hace positivamente con los neutrófilos (también más en el grupo NoTCDE). Además, correlaciona con todos los parámetros inflamatorios menos con la PCT y presenta el mayor coeficiente de correlación positiva en todos los análisis realizados con datos de PCR. Esta proteína, es una biomarcadora de inflamación, pero también una precursora de la amiloidosis, una complicación potencialmente mortal de la inflamación crónica [193]. Se produce en el hígado bajo el control de las citocinas pro-inflamatorias y es secretada a la sangre donde se unirá con su principal portador plasmático, la HDL. También se secreta localmente en sitios de inflamación y está implicada en la producción de citocinas y el reclutamiento de células inmunes. La isoforma 2, se regula durante la respuesta de fase aguda y se eleva en infecciones y en enfermedades autoinmunes. Crónicamente elevada es deletérea por favorecer la amiloidosis y como factor de riesgo para la aterosclerosis [194]. En la inflamación aguda

aumentan sus niveles rápidamente y a partir de las 48 h vuelven a bajar [195]. No se conocen las ventajas de esta cinética, pero la rápida biosíntesis por parte de los tejidos sugiere que es vital para la supervivencia. Un papel beneficioso potencial es su capacidad para movilizar el colesterol HDL para la reparación celular [196]. Parece lógico que, en las fases iniciales de la infección e inflamación, tenga una correlación positiva con neutrófilos y PCR, y negativa con los linfocitos, pues inicialmente la situación es de linfopenia y esto coincidiría con los niveles más elevados de esta proteína.

Cabe mencionar que la cadena pesada de la Inmunoglobulina alfa, con funciones en el sistema inmune, activación del complemento y mecanismos de defensa, muestra una correlación positiva con el NLR del grupo NoTCDE y negativa con el grupo TCDE. La inflamación juega un papel importante en la fisiopatología de la s-LRA y el NLR se ha utilizado como un marcador de la respuesta inflamatoria sistémica por su amplia disponibilidad y bajo coste, en distintas enfermedades incluyendo enfermedades renales y pacientes con s-AKI [197]. Los neutrófilos aumentan rápidamente como respuesta a la infección al jugar un papel fundamental en la respuesta inmune innata para intentar su control, fagocitando patógenos, liberando citocinas y activando a linfocitos T. Si la respuesta es excesiva favorecerá la disfunción múltiple de órganos e incluso la muerte. Las citocinas anti-inflamatorias inducen por un lado la inmunoparálisis y por otro la apoptosis de gran número de linfocitos, por eso el NRL indica un equilibrio entre ambos y es un indicador de inflamación sistémica [198], incluso en los casos puede retrasarse la apoptosis de los neutrófilos. Por otra parte, la linfopenia también está involucrada en este escenario, siendo un indicador de inmunosupresión inducida por la sepsis y factor de mortalidad en pacientes sépticos. Sin embargo, el NRL está influenciado por varias condiciones incluyendo afecciones y medicamentos que afectan a neutrófilos y linfocitos y por lo tanto se requiere una interpretación cuidadosa. El estudio de Yilmaz y col. [199], detectó una asociación entre el NLR y la s-LRA en 118 pacientes con sepsis grave a su ingreso en UCI, demostrando que el NRL puede predecir la LRA con un punto de corte de 10,15, con una sensibilidad y especificidad de 90,2 y 92,9 % respectivamente. De la misma manera, se ha relacionado con un peor pronóstico y mortalidad en pacientes bajo hemodiálisis convencional [200]. Y en pacientes

con LRA también se ha reportado que a más NRL mayor mortalidad tanto a los 30 como a los 90 días [201]. En nuestro estudio, el grupo NoTCDE presenta valores de NRL más elevados que el grupo TCDE, y por lo comentado anteriormente debería ser al revés al tratarse del grupo con peor pronóstico. El grupo de Hwang y col., realizó un estudio clasificando a sus pacientes en quintiles según los valores de NRL observando mayor mortalidad en el primer quintil (valores menores) seguidos del quinto quintil (valores más elevados). Justifican sus resultados comentando que incluyeron pacientes con neutropenia y que posiblemente estos entrarían en el grupo del primer quintil, con un peor pronóstico por dicho motivo. Quizá, pacientes con una mayor gravedad, podrían tener una menor respuesta del sistema inmune innato y por tanto menor capacidad de producción de neutrófilos con un NRL menor como ocurre con nuestros pacientes. En este sentido, la cadena pesada de la Inmunoglobulina alfa, proteína con funciones inmunes y de defensa, correlaciona negativamente con el grupo TCDE, pudiendo estar relacionado con un sistema inmune más aturdido ante la mayor gravedad, aunque habrá que confirmarlo en investigaciones futuras.

Dos proteínas correlacionan positivamente en los análisis de los datos de PCR, global y del grupo NoTCDE, la alfa-1- Glicoproteína ácida y la Haptoglobina. La alfa-1-glicoproteína ácida, conocida también como orosomucoide, se encuentra muy elevada durante la respuesta de fase aguda en la sepsis. Aunque sus funciones, no han sido claramente establecidas, exhibe un efecto inmunomodulador en varios tipos celulares incluyendo leucocitos, plaquetas y células endoteliales, manteniendo la permeabilidad capilar y protegiendo la perfusión tisular en modelos de shock realizados en animales (201). Barroso-Sousa y col. detectaron que los niveles de esta proteína mostraban una correlación inversa con la escala de gravedad SOFA y el ácido láctico y una correlación directa con la PCR como en nuestro estudio y también con la PaO_2/FiO_2 , sin embargo, no observaron correlación con la creatinina, bilirrubina, edad o APACHE II. En nuestros pacientes si se detectó correlación con la LRA y en concreto en los del grupo TCDE, lo que iría a favor de lo reportado por este autor, que sugiere que niveles bajos de esta proteína en pacientes con sepsis se asociaban a mayor mortalidad [203]. Sin embargo, en nuestro trabajo, esta

proteína no se selecciona en el grupo TCDE quizá porque sea eliminada con estas terapias. Otra hipótesis podría ser que la síntesis hepática en este grupo estuviese alterada, pero la bilirrubina y la PCR no mostraron diferencias entre los grupos y además la cirrosis hepática fue uno de los criterios de exclusión, pudiendo por tanto descartarla. Un estudio animal, demostró que la fibrosis renal y la inflamación observada en el riñón de ratones con obstrucción ureteral unilateral, se redujo mediante el tratamiento con la forma activa de la Vitamina D (1,25-dihidroxi-Vitamina D3) y que la alfa-1- Glicoproteína ácida aumentaba con la administración de la Vitamina D activa. Así pues, investigaron la implicación de esta proteína tras la administración exógena en ratones con obstrucción ureteral, observando que la fibrosis renal e inflamación se atenuaba, sugiriendo que podría ser una molécula clave en el efecto protector de la Vitamina D activa frente la fibrosis renal, ofreciendo una nueva estrategia terapéutica para la fibrosis e inflamación renal que sin duda habrá que investigar [204].

La Haptoglobina, proteína reactante de fase aguda con niveles variables en la sepsis, sigue una dinámica similar a la alfa-1- Glicoproteína ácida, aunque con una correlación con la PCR algo menor en nuestro estudio. En la sepsis, una característica común es la liberación de hemoglobina libre independientemente de que exista o no coagulación intravascular diseminada, con efectos tóxicos sobre el riñón, produciendo LRA por diferentes mecanismos, obstrucción tubular por cilindros pigmentosos, estrés oxidativo relacionado con el grupo hemo, consumo de NO y desregulación inmune [205]. Por eso, un objetivo obvio en la s-LRA sería disminuir sus niveles y esto se podría conseguir por diversos mecanismos: disminuyendo su liberación, aumentando su eliminación y disminuyendo la lesión oxidativa que puede producir. En este sentido, una de las moléculas más implicadas en su aclaramiento es la Haptoglobina, pudiendo administrarla exógenamente para intentar facilitar esa eliminación. En un estudio que incluyó 387 pacientes con sepsis grave, los niveles bajos de Haptoglobina se asociaron de manera independiente con un aumento de mortalidad, en pacientes con niveles elevados de hemoglobina libre, sugiriendo que la haptoglobina es fundamental para contrarrestar la toxicidad renal de la hemoglobina libre [161]. De hecho, en Japón, la Haptoglobina humana purificada

está aprobada para el tratamiento de la hemólisis grave durante el *by-pass* cardiopulmonar extracorpóreo, lesiones en grandes quemados y tras transfusión masiva. Trabajos no controlados realizados en Japón [206], han sugerido que en cirugía cardíaca con circulación extracorpórea su administración disminuye el riesgo de LRA post-cirugía, pero no se han realizado estudios prospectivos y menos en sepsis y s-LRA, abriendo nuevas opciones terapéuticas que se deberán investigar. En nuestro estudio, se correlaciona positivamente con la PCR en el grupo NoTCDE, que es el que tiene mejor pronóstico, sería interesante ver qué sucede con su administración en el grupo TCDE, pues quizá en este grupo pueda eliminarse con las terapias y su aporte exógeno modificar el pronóstico en estos pacientes, lo que deberá ser confirmado en futuros trabajos.

Entre las fortalezas del presente estudio es destacable en primer lugar el hecho de que la población estudiada es bastante homogénea pues los pacientes incluidos son todos con s-LRA, reduciendo factores de confusión que podrían alterar los resultados proteómicos y no reflejar el estado de la enfermedad, lo que dificultaría llegar a conclusiones generales. Todos los cambios proteómicos observados en nuestro estudio, están principalmente relacionados con la lesión renal aguda secundaria a la sepsis. En segundo lugar, la utilización como método para cuantificar las proteínas del SWATH (adquisición independiente de datos) ha permitido cuantificar proteínas de baja abundancia con mayor precisión, con alta reproducibilidad y con consistencia de los resultados.

El estudio presenta varias limitaciones, en primer lugar, se trata de un estudio realizado en un solo centro, y que incluye un tamaño muestral pequeño. Sin embargo, se encontró una fuerte correlación entre los niveles de ciertas proteínas y la gravedad de los pacientes determinada por las escalas e índices pronósticos habituales. Se identificaron claramente perfiles de proteínas ligados a predecir si los pacientes progresarán hacia la necesidad de terapias continuas de depuración extrarrenal, a la supervivencia y al riesgo de adquirir una infección nosocomial, así como algunas proteínas muy correlacionadas con parámetros inflamatorios y que podrían utilizarse como posibles dianas terapéuticas, y aunque estos hallazgos parecen muy atractivos a priori, necesitan ser validados

en otra cohorte independiente de pacientes, y, por lo tanto, los resultados no se pueden generalizar en el momento actual.

Si bien es cierto, que un biomarcador debe ser fisiológicamente relevante, fácil de obtener, fácil de interpretar y con elevada exactitud diagnóstica, en este contexto, ninguna de las proteínas identificadas con valor predictivo podría utilizarse en la actualidad como un biomarcador con fines diagnósticos y pronósticos por la dificultad tecnológica actual en su determinación, sin embargo, nuestro trabajo supone un avance en la comprensión de la lesión renal aguda asociada a la sepsis y es de esperar que futuros desarrollos en las tecnologías proteómicas posibiliten su uso predictivo y personalizado en esta población.

Finalmente, queda pendiente para estudios posteriores profundizar en el análisis funcional de las proteínas recogidas simultáneamente en plasma y en el ultrafiltrado lo que sin duda podría proporcionar una visión más precisa de la progresión de la enfermedad, así como un mayor conocimiento fisiopatológico de esta entidad.

6 CONCLUSIONES

- 1) En este estudio realizado en pacientes con sepsis y lesión renal aguda (LRA), la utilización de las técnicas proteómicas basadas en SWATH permitió de forma precisa y reproducible la identificación y cuantificación de 593 y 463 proteínas respectivamente que participan en los mecanismos de la respuesta inflamatoria del organismo a la infección.
- 2) Se identificó un panel de 16 proteínas séricas desreguladas (PROS, FINC, VWF, CADHS, RNAS1, RL40, BTB, KLKB1, ATRN, CFAH, PLAK, LYSC, TETN, APOA, HRG, VASN) que clasificó a los pacientes en función de la necesidad de Técnicas Continuas de Depuración Extrarrenal (TCDE) y que junto a datos clínicos y analíticos ayudará a decidir el inicio de las mismas con mayor precisión.
- 3) Se identificó un segundo panel constituido por 8 proteínas (PHLD, PYGL, MYDGF, MASP2, BHMT1, HS90A, HPPD, REG1A) que detectó precozmente el riesgo de adquirir una sobreinfección nosocomial.
- 4) Se identificó un conjunto de 10 proteínas (PYGL, G3P, ANGI, REG1, CSF1R, PHLD, APOA, AL1A1, ACY1, LG3PB) relacionadas con una menor supervivencia.
- 5) La Apolipoproteína C2 es la única proteína que se relacionó negativamente con la escala de gravedad SOFA y los índices pronósticos APACHE II y SAPS 3.
- 6) Se encontró una elevada correlación entre determinadas proteínas y algunos marcadores de inflamación habituales como linfocitos, neutrófilos, NLR, PCR y PCT; proteínas todas ellas relacionadas con la respuesta al estrés, mecanismos de defensa y sistema inmunitario.
- 7) Solo tres proteínas se correlacionan con la PCR: la proteína amiloide A-2 muestra la mayor correlación y se selecciona en el grupo TCDE, el de mayor gravedad, y las proteínas alfa-1-Glicoproteína ácida y Haptoglobina, que lo hacen en el grupo No TCDE, que posee mejor pronóstico.
- 8) La confirmación de estos hallazgos en una cohorte independiente de mayor tamaño permitiría avanzar en el concepto de medicina individualizada de precisión.

7 REFERENCIAS

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315: 801–23.
- [2] Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, de Mendonça A, Bruining H, *et al.* The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996; 22(7): 707–10.
- [3] Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, *et al.* Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study. *Critical Care Med.* 2006; 34: 344–53.
- [4] Bouza C, López-Cuadrado TL, Saz-Parkinson Z, Amate-Blanco JM. Epidemiology and recent trends of severe sepsis in Spain: a nationwide population-based analysis (2006-2011). *BMC Infect Dis.* 2014; 14: 3863.
- [5] Brun-Buisson C. The epidemiology of the systemic inflammatory response. *Intensive Care Med.* 2000; 26 Suppl 1: S64–74.
- [6] 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. *Critical Care Med.* 2007; 35: 1284–9.
- [7] Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. *New England Journal of Medicine* 2013; 369: 840–51.
- [8] Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, *et al.* Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Critical Care Med.* 2004; 32: 858–73.
- [9] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, *et al.* Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Critical Care Med.* 2008; 36: 296–327.
- [10] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, *et al.* Surviving Sepsis Campaign. *Critical Care Med.* 2013; 41: 580–637.
- [11] 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. *Intensive Care Med.* 2017; 43: 304–77.
- [12] Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. *Intensive Care Med.* 2018; 44: 925–8.
- [13] Blanco J, Muriel-Bombín A, Sagredo V, Taboada F, Gandía F, Tamayo L, *et al.* Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit Care.* 2008; 12 (6): R158–14.

- [14] Ferrer R, Artigas A, Suarez D, Palencia E, Levy MM, Arenzana A, *et al.* Effectiveness of Treatments for Severe Sepsis: A Prospective, Multicenter, Observational Study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009; 180 (1): 861–6.
- [15] Herrán-Monge R, Muriel-Bombín A, García-García MM, Merino-García PA, Martínez-Barrios M, Andaluz D, *et al.* Epidemiology and Changes in Mortality of Sepsis After the Implementation of Surviving Sepsis Campaign Guidelines. *J Intensive Care Med.* 2019; 34 (9): 740–50.
- [16] Castellanos-Ortega Á, Suberviola B, García-Astudillo LA, Holanda MS, Ortiz F, Llorca J, *et al.* Impact of the Surviving Sepsis Campaign protocols on hospital length of stay and mortality in septic shock patients: results of a three-year follow-up quasi experimental study. *Crit Care Med.* 2010; 38 (4): 1036-43.
- [17] Bauer M, Gerlach H, Vogelmann T, Preissing F, Stiefel J, Adam D. Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019-results from a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2020; 24 (1): 239.
- [18] Boomer JS, Green JM, Hotchkiss RS. The changing immune system in sepsis. *Virulence* 2013; 5:45–56.
- [19] Medicine R. Treating sepsis. *Mass Medical Soc.* 2002; 347: 966–7.
- [20] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, *et al.* 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical Care Med.* 2003; 31: 1250–6.
- [21] Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA* 2001; 286: 1754–8.
- [22] Greathouse KC, Hall MW. Critical Illness Induced Immune Suppression: Current State of the Science. *Am Crit Care.* 2016; 25: 85–92.
- [23] Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ* 2016; 353: i1585–20.
- [24] Namas R, Zamora R, Namas R, An G, Doyle J, Dick TE, *et al.* Sepsis: Something old, something new, and a systems view. *J Crit Care.* 2012; 27: 314.e1–314.e11.
- [25] Medzhitov R, Janeway C. Innate immunity. *New England Journal of Medicine* 2000; 343: 338–44.
- [26] László I, Trásy D, Molnár Z, Fazakas J. Sepsis: From Pathophysiology to Individualized Patient Care. *J Immunol Res.* 2015; 2015: 510413–36.
- [27] Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2012; 13: 34–45.
- [28] Deretic V, Saitoh T, Akira S. Autophagy in infection, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 722–37.

- [29] Fullerton JN, O'Brien AJ, Gilroy DW. Pathways mediating resolution of inflammation: when enough is too much. *J Pathol.* 2013; 231: 8–20.
- [30] Levy BD, Serhan CN. Resolution of Acute Inflammation in the Lung. *Annu Rev Physiol.* 2014; 76: 467–92.
- [31] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13: 260–8.
- [32] Landelle C, Lepape A, Français A, Tognet E, Thizy H, Voirin N, *et al.* Nosocomial Infection After Septic Shock Among Intensive Care Unit Patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2015; 29: 1054–65.
- [33] Schefold JC, Hasper D, Reinke P, Monneret G, Volk H-D. Consider delayed immunosuppression into the concept of sepsis. *Crit Care Med.* 2008; 36: 3116–8.
- [34] Huang M, Cai S, Su J. The pathogenesis of sepsis and potential therapeutic targets. *Int J Mol Sci.* 2019; 20 (21): 5376.
- [35] Monneret G, Venet F. Sepsis-induced immune alterations monitoring by flow cytometry as a promising tool for individualized therapy. *Cytometry B Clin Cytom* 2015; 90: 376–86.
- [36] Venet F, Lukaszewicz A-C, Payen D, Hotchkiss R, Monneret G. Monitoring the immune response in sepsis: a rational approach to administration of immunoadjuvant therapies. *Curr Opin Immunol.* 2013; 25: 477–83.
- [37] García-Álvarez M, Marik P, Bellomo R. Sepsis-associated hyperlactatemia. *Crit Care.* 2014; 18 (5): 503.
- [38] Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood* 2003; 101: 3765–77.
- [39] Levi M. Pathogenesis and treatment of disseminated intravascular coagulation in the septic patient. *J Crit Care.* 2001; 16: 167–77.
- [40] Iba T, Levy JH. Sepsis-induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Anesthesiology.* 2020; 132: 1238–45.
- [41] Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest.* 2012; 122: 2731–40.
- [42] Alobaidi R, Basu RK, Goldstein SL, Bagshaw SM. Sepsis-Associated Acute Kidney Injury. *Semin Nephrol.* 2015; 35: 2–11.
- [43] Doig CJ, Sutherland LR, Sandham JD, Fick GH, Verhoef M, Meddings JB. Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158: 444–51.
- [44] Woźnica E, Ingot M, Woźnica R, Łysenko L. Liver dysfunction in sepsis. *Adv Clin Exp Med.* 2018; 27: 547–52.

- [45] Ely EW, Shintani A, Truman B, Speroff T, Gordon SM, Harrell FE, *et al.* Delirium as a predictor of mortality in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. *JAMA*. 2004; 291: 1753–62.
- [46] Iacobone E, Bailly-Salin J, Polito A, Friedman D, Stevens RD, Sharshar T. Sepsis-associated encephalopathy and its differential diagnosis. *Crit Care Med*. 2009; 37: S331–S336.
- [47] Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, *et al.* Immunosuppression in Patients Who Die of Sepsis and Multiple Organ Failure. *JAMA* 2011; 306: 2521–94.
- [48] Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmiegel 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; 166: 6952–63.
- [49] Walton AH, Muenzer JT, Rasche D, Boomer JS, Sato B, Brownstein BH, *et al.* Reactivation of Multiple Viruses in Patients with Sepsis. *PLOS ONE* 2014; 9: e98819–13.
- [50] Drewry AM, Samra N, Skrupky LP, Fuller BM, Compton SM, Hotchkiss RS. Persistent Lymphopenia After Diagnosis of Sepsis Predicts Mortality. *Shock* 2014; 42: 383–91.
- [51] Bagshaw SM, George C, Bellomo C. Changes in the incidence and outcome for early acute kidney injury in a cohort of Australian intensive care units. *Crit Care*. 2007; 11 (3): R68.
- [52] Ostermann M, Joannidis M. Acute kidney injury 2016: diagnosis and diagnostic workup. *Crit Care*. 2016; 20 (1): 299.
- [53] Leedahl DD, Frazee EN, Schramm GE, Dierkhising RA, Bergstralh EJ, Chawla LS, *et al.* Derivation of urine output thresholds that identify a very high risk of AKI in patients with septic shock. *Clin J Am Soc Nephrol*; 2014; 9 (7): 1168–74.
- [54] 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) 816-828.
- [55] Mehta RL, Bouchard J, Soroko SB, Ikizler TA, Paganini EP, Chertow GM, *et al.* Sepsis as a cause and consequence of acute kidney injury: Program to Improve Care in Acute Renal Disease. *Intensive Care Med*. 2011; 37 (2): 241-8.
- [56] Griffin BR, Liu KD, Teixeira JP. Critical Care Nephrology: Core Curriculum 2020. *Am J Kidney Dis*. 2020; 75 (3): 435-452.
- [57] Gómez H, Ince C, de Backer D, Pickkers P, Payen D, Hotchkiss J, *et al.* A Unified Theory of Sepsis-Induced Acute Kidney Injury. *Shock* 2014; 41:3–11.
- [58] Peerapornratana S, Manrique-Caballero CL, Gómez H, Kellum JA. Acute kidney injury from sepsis: current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment. *Kidney Int*. 2019; 96: 1083–99.

- [59] Wang Z, Holthoff JH, Seely KA, Pathak E, Spencer HJ, Gokden N, *et al.* Development of Oxidative Stress in the Peritubular Capillary Microenvironment Mediates Sepsis-Induced Renal Microcirculatory Failure and Acute Kidney Injury. *Am J Pathol.* 2012; 180 (2): 505–16.
- [60] de Backer D, Donadello K, Taccone FS, Ospina-Tascon G, Salgado D, Vincent J-L. Microcirculatory alterations: potential mechanisms and implications for therapy. *Ann Intensive Care* 2011; 1 (1):27–8.
- [61] Gómez H, Kellum JA, Ronco C. Metabolic reprogramming and tolerance during sepsis-induced AKI. *Nat Rev Nephrol.* 2017; 13 (3): 143-151.
- [62] Kalakeche R, Hato T, Rhodes G, Dunn KW, El-Achkar TM, Plotkin Z, *et al.* Endotoxin uptake by S1 proximal tubular segment causes oxidative stress in the downstream S2 segment. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22:1505–16.
- [63] Zhao S, Chen F, Yin Q, Wang D, Zhang Y. Reactive Oxygen Species Interact With NLRP3 Inflammasomes and Are Involved in the Inflammation of Sepsis: From Mechanism to Treatment of Progression. *Front Physiol.* 2020. 11: 571810.
- [64] Dyson A, Bezemer R, Legrand M, Balestra G, Singer M, Ince C. Microvascular and Interstitial Oxygen Tension in the Renal Cortex and Medulla Studied in A 4-H Rat Model of LPS-Induced Endotoxemia. *Shock* 2011; 36: 83–9.
- [65] Verma SK, Molitoris BA. Renal Endothelial Injury and Microvascular Dysfunction in Acute Kidney Injury. *Sem Nephrol.* 2015; 35: 96–107.
- [66] Post EH, Kellum JA, Bellomo R, Vincent J-L. Renal perfusion in sepsis: from macro- to microcirculation. *Kidney Int.* 2016; 91 (1): 45-60.
- [67] Singh P, Okusa MD. The role of tubuloglomerular feedback in the pathogenesis of acute kidney injury. *Contrib Nephrol.* 2011; 174:12–21.
- [68] Calzavacca P, Evans RG, Bailey M, Bellomo R, May CN. Cortical and Medullary Tissue Perfusion and Oxygenation in Experimental Septic Acute Kidney Injury. *Crit Care Med.* 2015; 43: e431–e439.
- [69] Casellas D, Mimran A. Shunting in renal microvasculature of the rat: a scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Anat Rec.* 1981; 201: 237–48.
- [70] Pettilä V, Bellomo R. Understanding acute kidney injury in sepsis. *Intensive Care Med.* 2014; 40: 1018–20.
- [71] Cunha FQ, Assreuy J, Moss DW, Rees D, Leal LM, Moncada S, *et al.* Differential induction of nitric oxide synthase in various organs of the mouse during endotoxaemia: role of TNF- α and IL-1- β . *Immunology* 1994; 81: 211–5.
- [72] Trzeciak S, Cinel I, Phillip Dellinger R, Shapiro NI, Arnold RC, Parrillo JE, *et al.* Resuscitating the Microcirculation in Sepsis: The Central Role of Nitric Oxide, Emerging Concepts for Novel Therapies, and Challenges for Clinical Trials. *Acad Emerg Med.* 2008; 15: 399–413.

- [73] Legrand M, Bezemer R, Kandil A, Demirci C, Payen D, Ince C. The role of renal hypoperfusion in development of renal microcirculatory dysfunction in endotoxemic rats. *Intensive Care Med.* 2011; 37: 1534–42.
- [74] Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, Artigas A, Bagshaw SM, Bell M, et al. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Critical Care* 2013; 17: R25–12.
- [75] Poston JT, Koyner JL. Sepsis associated acute kidney injury. *BMJ* 2019; 2: k4891–17.
- [76] Chawla LS, Bellomo R, Bihorac A, Goldstein SL, Siew ED, Bagshaw SM, et al. Acute kidney disease and renal recovery: consensus report of the Acute Disease Quality Initiative (ADQI) 16 Workgroup. *Nat Rev Nephrol.* 2017; 13 (4): 241-257.
- [77] Rabb H, Griffin MD, McKay DB, Swaminathan S, Pickkers P, Rosner MH, et al. Inflammation in AKI: Current Understanding, Key Questions, and Knowledge Gaps. *J Am Soc Nephrol.* 2016; 27:371–9.
- [78] Kurts C, Panzer U, Anders H-J, Rees AJ. The immune system and kidney disease: basic concepts and clinical implications. *Nat Rev Immunol.* 2013; 13:738–53.
- [79] Yalavarth R, Edelstein CL. Therapeutic and predictive targets of AKI. *Clin Nephrol.* 2008; 70 (6): 453–63.
- [80] 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* 2016; 315: 2190–9. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.5828>.
- [81] 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. *New England Journal of Medicine* 2016; 375: 122–33.
- [82] 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. *New England Journal of Medicine* 2018; 379: 1431–42.
- [83] Bagshaw. Timing of Initiation of Renal-Replacement Therapy in Acute Kidney Injury. *New England Journal of Medicine* 2020; 383:240–51.
- [84] Tandukar S, Palevsky PM. Continuous Renal Replacement Therapy. *CHEST* 2019; 155 (3): 626–38.
- [85] Roncop C, Bellomo R. Acute kidney injury. *Lancet* 2019; 394: 1949–64.
- [86] Ronco C, Kellum JA, Bellomo R, House AA. Potential Interventions in Sepsis-Related Acute Kidney Injury. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3: 531–44.
- [87] Sánchez-Izquierdo JA, Pérez Vela JL, Lozano Quintana MJ, Alted Lopez E, de Solo B, Ambros Checa A. Cytokines clearance during venovenous hemofiltration in the trauma patient. *Am J Kid Dis.* 1997; 30: 483–8.

- [88] Morgera S, Haase M, Kuss T, Vargas-Hein O, Zuckermann-Becker H, Melzer C, *et al.* Pilot study on the effects of high cutoff hemofiltration on the need for norepinephrine in septic patients with acute renal failure. *Crit Care Med.* 2006; 34: 2099–104.
- [89] Pedrini LA, Krisp C, Gmerek A, Wolters DA. Patterns of Proteins Removed with High-Flux Membranes on High-Volume Hemodiafiltration Detected with a MultiDimensional LC-MS/MS Strategy. *Blood Purif.* 2014; 38: 115–26.
- [90] Karvunidis T, Mares J, Thongboonkerd V, Matejovic M. Recent progress of proteomics in critical illness. *Shock* 2009; 31:545–52.
- [91] Holmes CL, Russell JA, Walley KR. Genetic Polymorphisms in Sepsis and Septic Shock. *CHEST* 2003; 124: 1103–15.
- [92] Calvano SE, Xiao W, Richards DR, Felciano RM, Baker H v, Cho RJ, *et al.* A network-based analysis of systemic inflammation in humans. *Nature* 2005; 437:1 032–7.
- [93] Anderson NL, Anderson NG. The Human Plasma Proteome. *Mol Cel Proteomics.* 2002; 1 (11): 845–67.
- [94] González-Buitrago JM, Ferreira L, del Carmen Muñiz M. Proteómica clínica y nuevos biomarcadores en los líquidos biológicos. *Med Clin.* 2008; 131: 426–34.
- [95] Camprubí-Rimblas M, Artigas A, Guillamat-Prats R. An Overview of Proteomics on Sepsis. *J Phys Chem Biophys.* 2015; 5:1–6.
- [96] Paiva RA de, David CM, Domont GB. Proteomics in sepsis: a pilot study. *Rev Bras Ter Intensiva* 2010; 22 (4): 403–12.
- [97] Hattori N, Oda S, Sadahiro T, Nakamura M, Abe R, Shinozaki K, *et al.* YKL-40 identified by proteomic analysis as a biomarker of sepsis. *Shock* 2009; 32: 393–400.
- [98] Paugam-Burtz C, Albuquerque M, Baron G, Bert F, Voitot H, Delefosse D, *et al.* Plasma proteome to look for diagnostic biomarkers of early bacterial sepsis after liver transplantation: a preliminary study. *Anesthesiology* 2010; 112: 926–35.
- [99] Kalenka A, Feldmann Jr RE, Otero K, Maurer MH, Waschke KF, Fiedler F. Changes in the Serum Proteome of Patients with Sepsis and Septic Shock. *Anesth Analg* 2006; 103: 1522–6.
- [100] Joannidis M. Continuous Renal Replacement Therapy in Sepsis and Multisystem Organ Failure. *Semin Dial* 2009; 22: 160–4.
- [101] Gong Y, Chen N, Wang F-Q, Wang Z-H, Xu H-X. Serum proteome alteration of severe sepsis in the treatment of continuous renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 24: 3108–14.
- [102] Molina H, Bunkenborg J, Reddy GH, Muthusamy B, Scheel PJ, Pandey A. A proteomic analysis of human hemodialysis fluid. *Mol Cel Proteomics* 2005; 4: 637–50.
- [103] Khwaja A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. *Nephron Clin Pract.* 2012; 120 (4): c179–c184.

- [104] Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. Prognosis in acute organ-system failure. *Ann Surg*. 1985; 202 (6): 685-93.
- [105] Metnitz PGH, Moreno RP, Almeida E, Jordan B, Bauer P, Campos RA, *et al*. SAPS 3-From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 1: Objectives, methods and cohort description. *Intensive Care Med*. 2005; 31: 1336-44.
- [106] Zor T, Selinger Z. Linearization of the Bradford Protein Assay Increases Its Sensitivity: Theoretical and Experimental Studies. *Anal Biochem*. 1996; 236 (2): 302-8.
- [107] Shevchenko A, Jensen ON, Podtelejnikov A v, Sagliocco F, Wilm M, Vorm O, *et al*. Linking genome and proteome by mass spectrometry: Large-scale identification of yeast proteins from two dimensional gels. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93 (25): 14440-5.
- [108] Gillet LC, Navarro P, Tate S, Röst H, Selevsek N, Reiter L, *et al*. Targeted data extraction of the MS/MS spectra generated by data-independent acquisition: A new concept for consistent and accurate proteome analysis. *Mol Cel Proteomics* 2012; 11 (6): O111.016717
- [109] Shilov I v., Seymour SL, Patel AA, Loboda A, Tang WH, Keating SP, *et al*. The paragon algorithm, a next generation search engine that uses sequence temperature values sequence temperature values and feature probabilities to identify peptides from tandem mass spectra. *Mol Cel Proteomics* 2007; 6: 1638-55.
- [110] Szklarczyk D, Gable AL, Lyon D, Junge A, Wyder S, Huerta-Cepas J, *et al*. STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res* 2019; 47: D607-13.
- [111] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc*. 2009; 4: 44-57.
- [112] Mi H, Ebert D, Muruganujan A, Mills C, Albou LP, Mushayamaha T, *et al*. PANTHER version 16: A revised family classification, tree-based classification tool, enhancer regions and extensive API. *Nucleic Acids Res*. 2021; 49: D394-403.
- [113] María A, Piñeiro R, Páez De La Cadena M, Javier F, Berrocal R. La inevitable estadística... en el mundo de la proteómica. *Proteómica* 2008; 2:36-47.
- [114] Lê Cao KA, Boitard S, Besse P. Sparse PLS discriminant analysis: biologically relevant feature selection and graphical displays for multiclass problems. *BMC Bioinformatics* 2011; 12:253.
- [115] Key M. A tutorial in displaying mass spectrometry-based proteomic data using heat maps. *BMC Bioinformatics* 2012; 13 Suppl 16.
- [116] Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Bioinformatics enrichment tools: Paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res*. 2009; 37: 1-13.
- [117] Mi H, Ebert D, Muruganujan A, Mills C, Albou LP, Mushayamaha T, *et al*. PANTHER version 16: A revised family classification, tree-based classification tool, enhancer regions and extensive API. *Nucleic Acids Res*. 2021; 49: D394-403.

- [118] Marx D, Metzger J, Pejchinovski M, Gil RB, Frantzi M, Latosinska A, *et al.* Proteomics and Metabolomics for AKI Diagnosis. *Sem Nephrol.* 2018; 38: 63–87.
- [119] Ludwig KR, Hummon AB. Mass spectrometry for the discovery of biomarkers of sepsis. *Mol BioSystems* 2017; 13: 648–64.
- [120] Hasson D, Goldstein SL, Standage SW. The application of omic technologies to research in sepsis-associated acute kidney injury. *Ped Nephrol.* 2021; 36: 1075–86.
- [121] Triantafilou M, Mouratis MA, Lepper PM, Haston RM, Baldwin F, Lowes S, *et al.* Serum proteins modulate lipopolysaccharide and lipoteichoic acid-induced activation and contribute to the clinical outcome of sepsis. *Virulence* 2012; 3: 136–45.
- [122] Lefler DM, Pafford MG, Black NA, Raymond JR, Arthur JM. Identification of proteins in slow continuous ultrafiltrate by reversed-phase chromatography and proteomics. *J Prot Res* 2004; 3: 1254–60.
- [123] Shen Z, Want EJ, Chen W, Keating W, Nussbaurner W, Moore R, *et al.* Sepsis plasma protein profiling with immunodepletion, three-dimensional liquid chromatography tandem mass spectrometry, and spectrum counting. *J Prot Res.* 2006; 5: 3154–60.
- [124] Hashida T, Nakada T aki, Satoh M, Tomita K, Kawaguchi R, Nomura F, *et al.* Proteome analysis of hemofilter adsorbates to identify novel substances of sepsis: a pilot study. *J Art Organs* 2017; 20:132–7.
- [125] de Coux A, Tian Y, Deleon-Pennell KY, Nguyen NT, de Castro Brás LE, Flynn ER, *et al.* Plasma glycoproteomics reveals sepsis outcomes linked to distinct proteins in common pathways. *Crit Care Med.* 2015; 43 (10): 2049–58.
- [126] Hayashi N, Yamaguchi S, Rodenburg F, Wong SY, Ujimoto K, Miki T, *et al.* Multiple biomarkers of sepsis identified by novel time-lapse proteomics of patient serum. *PLoS ONE* 2019; 14 (9): e0222403.
- [127] García-Obregon S, Azkargorta M, Seijas I, Pilar-Orive J, Borrego F, Elortza F, *et al.* Identification of a panel of serum protein markers in early stage of sepsis and its validation in a cohort of patients. *J Microbio Immunol Infect.* 2018; 51 (4): 465-472.
- [128] Liang X, Wu T, Chen Q, Jiang J, Jiang Y, Ruan Y, *et al.* Serum proteomics reveals disorder of lipoprotein metabolism in sepsis. *Life Sci Alliance.* 2021; 4 (10): e202101091.
- [129] Ahmed AR, Obilana A, Lappin D. Renal Replacement Therapy in the Critical Care Setting. *Crit Care Res Pract.* 2019; 6.948710.
- [130] Prowle JR, Davenport A. Does early-start renal replacement therapy improve outcomes for patients with acute kidney injury? *Kidney Int.* 2015; 88 (4): 670–3.
- [131] Meersch M, Zarbock A. Renal replacement therapy in critically ill patients: Who, when, why, and how. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2018; 31 (2): 151–7.

- [132] 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. *New England Journal of Medicine* 2018; 379: 1431–42.
- [133] 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*. 2016; 315: 2190–9.
- [134] 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. *New England Journal of Medicine* 2016; 375 (2):122–33.
- [135] The STARRT-AKI Investigators. Timing of Initiation of Renal-Replacement Therapy in Acute Kidney Injury. *New England Journal of Medicine* 2020; 383: 240–51.
- [136] Ostermann M, Joannidis M, Pani A, Floris M, de Rosa S, Kellum JA, *et al.* Patient Selection and Timing of Continuous Renal Replacement Therapy. *Blood Purification* 2016; 42: 224–37.
- [137] Parente R, Clark SJ, Inforzato A, Day AJ. Complement factor H in host defense and immune evasion. *Cel Mol Life Sci*. 2017; 74: 1605–24.
- [138] Meri S, Haapasalo K. Function and Dysfunction of Complement Factor H During Formation of Lipid-Rich Deposits. *Front Immunol* 2020; 11.
- [139] Mühlhlig AK, Keir LS, Abt JC, Heidelberg HS, Horton R, Welsh GI, *et al.* Podocytes Produce and Secrete Functional Complement C3 and Complement Factor H. *Front Immunol*. 2020;11: 1833.
- [140] Kawecki C, Lenting PJ, Denis CV. von Willebrand factor and inflammation. *J Thromb Haemost*. 2017; 15: 1285–94.
- [141] Dahlbäck B. Vitamin K-Dependent Protein S: Beyond the Protein C Pathway. *Sem Thromb Hemost*. 2018; 44:176–84.
- [142] Cho J, Mosher DF. Role of fibronectin assembly in platelet thrombus formation. *J Thromb Haemost*. 2006; 4 (7): 1461-9.
- [143] Wang Y, Carrim N, Ni H. Fibronectin orchestrates thrombosis and hemostasis. *Oncotarget*. 2015; 16 (23): 19350-1.
- [144] K Bowers SL, Davis-Rodriguez S, Thomas ZM, Rudomanova V, Clark Bacon W, Beiersdorfer A, *et al.* RAPID REPORT Mechanism and Treatment of Renal Fibrosis Inhibition of fibronectin polymerization alleviates kidney injury due to ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2019; 316: 1293–8.
- [145] Kang SW, Shih PAB, Mathew RO, Mahata M, Biswas N, Rao F, *et al.* Renal kallikrein excretion and epigenetics in human acute kidney injury: Expression, mechanisms and consequences. *BMC Nephrol*. 2011; 12.

- [146] Yu WK, McNeil JB, Wickersham NE, Shaver CM, Bastarache JA, Ware LB. Vascular endothelial cadherin shedding is more severe in sepsis patients with severe acute kidney injury. *Crit Care*. 2019; 23: 18.
- [147] Ebihara I, Hirayama K, Nagai M, Koda M, Gunji M, Okubo Y, *et al*. Soluble vascular endothelial-cadherin levels in patients with sepsis treated with direct hemoperfusion With a Polymyxin B-immobilized Fiber Column. *Ther Apher Dial*. 2014; 18 (3): 272–8.
- [148] Ostrowski SR, Berg RMG, Windeløv NA, Meyer MAS, Plovsing RR, Møller K, *et al*. Coagulopathy, catecholamines, and biomarkers of endothelial damage in experimental human endotoxemia and in patients with severe sepsis: A prospective study. *J Crit Care*. 2013; 28:5 86–96.
- [149] Poon IKH, Patel KK, Davis DS, Parish CR, Hulett MD. Histidine-rich glycoprotein: the Swiss Army knife of mammalian plasma. *Blood*. 2011; 117 (7): 2093-101.
- [150] Merchant ML, Brier ME, Slaughter MS, Klein JB, McLeish KR. Biomarker enhanced risk prediction for development of AKI after cardiac surgery. *BMC Nephrol*. 2018; 19 (1):102.
- [151] Nishibori M, Wake H, Morimatsu H. Histidine-rich glycoprotein as an excellent biomarker for sepsis and beyond. *Crit Care*. 2018; 22 (1): 209.
- [152] Wake H, Mori S, Liu K, Morioka Y, Teshigawara K, Sakaguchi M, *et al*. Histidine-Rich Glycoprotein Prevents Septic Lethality through Regulation of Immunothrombosis and Inflammation. *EBioMedicine*. 2016; 9: 180–94.
- [153] Wang C, Cui Y, Miao H, Xiong X, Dou J, Shao L, *et al*. Apolipoprotein A-V is a novel diagnostic and prognostic predictor in pediatric patients with sepsis: A prospective pilot study in PICU. *Mediators Inflamm*. 2020; 8052954.
- [154] Moreira RS, Irigoyen M, Sanches TR, Volpini RA, Camara NOS, Malheiros DM, *et al*. Apolipoprotein A-I mimetic peptide 4F attenuates kidney injury, heart injury, and endothelial dysfunction in sepsis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014; 307: 514–24.
- [155] Gotes J, Kasian K, Jacobs H, Cheng ZQ, Mink SN. Lysozyme, a mediator of sepsis that deposits in the systemic vasculature and kidney as a possible mechanism of acute organ dysfunction. *Shock* 2014; 41:256–65.
- [156] Wang Y, Zheng C, Wang X, Zuo K, Liu Z. Proteomic profile-based screening of potential protein biomarkers in the urine of patients with nephrotic syndrome. *Mol Med Rep*. 2017; 16 (5): 6276–84.
- [157] Chen W, Qiang X, Wang Y, Zhu S, Li J, Babaev A, *et al*. Identification of tetranectin-targeting monoclonal antibodies to treat potentially lethal sepsis. *Sci Transl Med*. 2020; 12 (539): eaaz3833.
- [158] Duke-Cohan JS, Tang W, Schlossman SF. *Attractin: a cub-family protease involved in t cell-monocyte/macrophage interactions*. *Adv Exp Med Biol*. 2000; 477: 173-85.

- [159] Bonnet AL, Chaussain C, Broutin I, Rochefort GY, Schrewe H, Gaucher C. From vascular smooth muscle cells to folliculogenesis: What about vasorin? *Front Med.* 2018; 5: 535.
- [160] García-Obregon S, Azkargorta M, Seijas I, Pilar-Orive J, Borrego F, Elortza F, *et al.* Identification of a panel of serum protein markers in early stage of sepsis and its validation in a cohort of patients. *J Microbiol Immunol Infect.* 2018; 51: 465–72.
- [161] Janz DR, Bastarache JA, Sills G, Wickersham N, May AK, Bernard GR, *et al.* Association between haptoglobin, hemopexin and mortality in adults with sepsis. *Crit care.* 2013; 17b (6): R272.
- [162 de Coux A, Tian Y, Deleon-Pennell KY, Nguyen NT, de Castro Brás LE, Flynn ER, *et al.* Plasma glycoproteomics reveals sepsis outcomes linked to distinct proteins in common pathways. *Crit Care Med.* 2015; 43:2049–58.
- [163] Langley RJ, Tsalik EL, van Velkinburgh JC, Glickman SW, Rice BJ, Wang C, *et al.* Sepsis: An integrated clinico-metabolomic model improves prediction of death in sepsis. *Sci Transl Med.* 2013; 5 (195): 195ra95.
- [164] Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. *Intensive Care Med.* 2018; 44:925–8.
- [165] Korf-Klingebl M, Reboll MR, Klede S, Brod T, Pich A, Polten F, *et al.* Myeloid-derived growth factor (C19orf10) mediates cardiac repair following myocardial infarction. *Nat Med.* 2015; 21: 140–9.
- [166] Bortnov V, Tonelli M, Lee W, Lin Z, Annis DS, Demerdash ON, *et al.* Solution structure of human myeloid-derived growth factor suggests a conserved function in the endoplasmic reticulum. *Nat Commun.* 2019; 10 (1): 5612.
- [167] Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature* 2011; 475:324–32.
- [168] Zuehlke AD, Moses MA, Neckers L. Heat shock protein 90: Its inhibition and function. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2018; 373 (1738): 20160527.
- [169] Thavarajah T, dos Santos CC, Slutsky AS, Marshall JC, Bowden P, Romaschin A, *et al.* The plasma peptides of sepsis. *Clin Proteomics.* 2020; 17: 26.
- [170] Maddens B, Ghesquière B, Vanholder R, Demon D, Vanmassenhove J, Gevaert K, *et al.* Chitinase-like proteins are candidate biomarkers for sepsis-induced acute kidney injury. *Mol Cel Proteomics* 2012; 11 (6).M111.013094.
- [171] Wu F, Dong X-J, Li Y-Y, Zhao Y, Xu Q-L, Su L. Identification of phosphorylated MYL12B as a potential plasma biomarker for septic acute kidney injury using a quantitative proteomic approach. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8 (11): 14409-16.
- [172] Thongboonkerd V, Chiangjong W, Mares J, Moravec J, Tuma Z, Karvunidis T, *et al.* Altered plasma proteome during an early phase of peritonitis-induced sepsis. *Clin Sci.* 2009; 116:721–30.

- [173] Sherman JR, Weinberg RB. Serum Apolipoprotein A-IV and Lipoprotein Cholesterol in Patients Undergoing Total Parenteral Nutrition. *Gastroenterology*. 1988; 95 (2): 394-401.
- [174] Poukkanen M, Vaara ST, Pettilä V, Kaukonen KM, Korhonen AM, Hovilehto S, *et al*. Acute kidney injury in patients with severe sepsis in finnish intensive care units. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2013; 57: 863–72.
- [175] Luo M, Zhang Q, Hu Y, Sun C, Sheng Y, Deng C. LGALS3BP: A potential plasma biomarker associated with diagnosis and prognosis in patients with sepsis. *Infect Drug Resist*. 2021;14: 2863–71.
- [176] Garzotto F, Piccinni P, Cruz D, Gramaticopolo S, Dal Santo M, Aneloni G, *et al*. RIFLE-Based data collection/management system applied to a prospective cohort multicenter italian study on the epidemiology of acute kidney injury in the intensive care unit. *Blood Purification*. 2011; 31: 159–71.
- [177] Peters E, Antonelli M, Wittebole X, Nanchal R, François B, Sakr Y, *et al*. A worldwide multicentre evaluation of the influence of deterioration or improvement of acute kidney injury on clinical outcome in critically ill patients with and without sepsis at ICU admission: Results from The Intensive Care Over Nations audit. *Crit Care*. 2018; 22 (1): 188.
- [178] Bulger EM, May A, Bernard A, Cohn S, Evans DC, Henry S, *et al*. Impact and progression of organ dysfunction in patients with necrotizing soft tissue infections: A multicenter study. *Surg Infect*. 2015; 16: 694–701.
- [179] de Grooth HJ, Geenen IL, Girbes AR, Vincent JL, Parienti JJ, Straaten HMO. SOFA and mortality endpoints in randomized controlled trials: a systematic review and meta-regression analysis. *Crit Care*. 2017; 21 (1): 38.
- [180] Huang Z, Fu Z, Huang W, Huang K. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in sepsis: A meta-analysis. *Am J Emerg Med*. 2020; 38 (3): 641–7.
- [181] Lorente L, Martín MM, Ortiz-López R, Alvarez-Castillo A, Ruiz C, Uribe L, *et al*. Association between neutrophil-to-lymphocyte ratio in the first seven days of sepsis and mortality. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2020.
- [182] Intensity of Renal Support in Critically Ill Patients with Acute Kidney Injury. *New England Journal of Medicine* 2008; 359:7–20.
- [183] Bellomo R, Cass A, Cole L, Finfer S, Gallagher M, Lo S, *et al*. Intensity of Continuous Renal-Replacement Therapy in Critically Ill Patients The RENAL Replacement Therapy Study Investigators. *NEJM*. 2009; 361 (17): 1627-38.
- [184] Maynar Moliner J, Honore PM, Sánchez-Izquierdo Riera JA, Herrera Gutiérrez M, Spapen HD. Handling continuous renal replacement therapy-related adverse effects in intensive care unit patients: The dialytrauma concept. *Blood Purification* 2012; 34: 177–85.
- [185] Heintz BH, Matzke GR, Dager WE. Antimicrobial dosing concepts and recommendations for critically ill adult patients receiving continuous renal replacement therapy or intermittent hemodialysis. *Pharmacotherapy* 2009; 29:562–77.

- [186] Almansa R, Wain J, Tamayo E, Andaluz-Ojeda D, Martin-Loeches I, Ramirez P, *et al.* Immunological monitoring to prevent and treat sepsis. *Crit Care*. 2013; 17 (1): 109.
- [187] Zhang Y, Li J, Lou J, Zhou Y, Bo L, Zhu J, *et al.* Upregulation of programmed death-1 on T cells and programmed death ligand-1 on monocytes in septic shock patients. *Crit Care*. 2011; 15.
- [188] Venet F, Davin F, Guignant C, Larue A, Cazalis MA, Darbon R, *et al.* Early assessment of leukocyte alterations at diagnosis of septic shock. *Shock* 2010; 34: 358–63.
- [189] White CA, Ghazan-Shahi S, Adams MA. B-trace protein: A marker of GFR and other biological pathways. *Am J Kidney Dis*. 2015; 65 (1): 131–46.
- [190] Donadio C, Lucchesi A, Ardini M, Donadio E, Giordani R. Serum levels of β -trace protein and glomerular filtration rate - Preliminary results. *Pharm Biomed Anal*. 2003; 32 (4-5): 1099–104.
- [191] Wajda J, Dumnicka P, Sporek M, Maziarz B, Kolber W, Ząbek-Adamska A, *et al.* Does beta-trace protein (BTP) outperform cystatin C as a diagnostic marker of acute kidney injury complicating the early phase of acute pancreatitis? *J Clin Med*. 2020; 9 (1): 205.
- [192] Shao B, de Boer I, Tang C, Mayer PS, Zelnick L, Afkarian M, *et al.* A Cluster of Proteins Implicated in Kidney Disease Is Increased in High-Density Lipoprotein Isolated from Hemodialysis Subjects. *J Prot Res*. 2015; 14: 2792–806.
- [193] Westermark P. Do we need to demonstrate amyloid in tissue for hereditary ATTR amyloidosis? *Orphanet J Rare Dis*. 2015; 10.
- [194] Thompson JC, Wilson PG, Shridas P, Ji A, de Beer M, de Beer FC, *et al.* Serum amyloid A3 is pro-atherogenic. *Atherosclerosis* 2018; 268: 32–5.
- [195] Sun L, Ye RD. Serum amyloid A1: Structure, function and gene polymorphism. *Gene* 2016; 583: 48–57.
- [196] Jayaraman S, Fä Ndrich M, Gursky O. Synergy between serum amyloid A and secretory phospholipase A2. *Elife*. 2019; 8: e46630.
- [197] Bu X, Zhang L, Chen P, Wu X. Relation of neutrophil-to-lymphocyte ratio to acute kidney injury in patients with sepsis and septic shock: A retrospective study. *Int Immunopharmacol*. 2019; 70: 372–7.
- [198] Zahorec R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratisl Med J*. 2021; 122: 474–88.
- [199] Yilmaz H, Cakmak M, Inan O, Darcin T, Akcay A. Can neutrophil-lymphocyte ratio be independent risk factor for predicting acute kidney injury in patients with severe sepsis? *Ren Fail*. 2015; 37: 225–9.
- [200] Li H, Lu X, Xiong R, Wang S. High Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Predicts Cardiovascular Mortality in Chronic Hemodialysis Patients. *Mediators Inflamm*. 2017; 2017: 9327136.

- [201] Fan LL, Wang YJ, Nan CJ, Chen YH, Su HX. Neutrophil-lymphocyte ratio is associated with all-cause mortality among critically ill patients with acute kidney injury. *Clin Chim Acta*. 2019; 490: 207–13.
- [202] Muchitsch EM, Auer W, Pichler L. Effects of α 1-acid glycoprotein in different rodent models of shock. *Fundam Clin Pharmacol*. 1998; 12:173–81.
- [203] Barroso-Sousa R, Lobo RR, Mendonça PR, Memória RR, Spiller F, Cunha FQ, *et al*. Decreased levels of alpha-1-acid glycoprotein are related to the mortality of septic patients in the emergency department. *Clinics* 2013; 68 (8): 1134–9.
- [204] Bi J, Watanabe H, Fujimura R, Nishida K, Nakamura R, Oshiro S, *et al*. A downstream molecule of 1,25-dihydroxyvitamin D3, alpha-1-acid glycoprotein, protects against mouse model of renal fibrosis. *Sc Rep*. 2018; 8 (1): 17329.
- [205] Kerchberger VE, Ware LB. The Role of Circulating Cell-Free Hemoglobin in Sepsis-Associated Acute Kidney Injury. *Sem Nephrol*. 2020; 40: 148–59.
- [206] Kubota K, Egi M, Mizobuchi S. Haptoglobin administration in cardiovascular surgery patients: Its association with the risk of postoperative acute kidney injury. *Anesth Analg*. 2017; 124: 1771–6.

ANEXOS



FPNT-CEIB-07 (A)

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Don Serafin Rodríguez Capellán, Secretario del Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe,

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado en su sesión de fecha **13 de septiembre de 2016**, el Proyecto de Tesis:

Título: **"ESTUDIO PROTEÓMICO DEL ULTRAFILTRADO EN PACIENTES CON SHOCK SÉPTICO Y FRACASO RENAL."**

Nº de registro **2016/0289**

Versión/fecha de la memoria del proyecto: **PROYECTO TESIS**

Versión/fecha de la Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado: **3ª/ 09 de septiembre de 2016**

Que dicho proyecto se ajusta a las normativas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y es viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc, descritos en la solicitud, así como la Hoja de Información al Paciente y el Consentimiento Informado.

En consecuencia, este Comité acuerda emitir **INFORME FAVORABLE** de dicho Proyecto de Tesis que será realizado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, siendo el Director de la Tesis el/la Dr. / Dra. **PAULA RAMIREZ GALLEYMORE** del servicio/unidad/grupo de investigación de **UCI**, el Tutor del Hospital el/la Dr./ Dra. **ÁLVARO CASTELLANOS ORTEGA** del servicio/unidad/grupo de investigación de **UCI**, y el **DOCTORANDO D./ Dña. Mª JESÚS BROCH PORCAR**.

Miembros del CEIB:

Presidente:

Dr. JOAN SALOM SANVALERO (Unidad de Circulación Cerebral Experimental)

Vicepresidente:

Dr. JOSE VICENTE CERVERA ZAMORA (Hematología)

Secretario:

D. SERAFIN RODRIGUEZ CAPELLAN (Licenciado en derecho-Ajeno profesión sanitaria)

Miembros:

Dr. SALVADOR ALIÑO PELLICER (Catedrático Farmacólogo Clínico)

Dr. LUIS ALMENAR BONET (Cardiología)

Dra. ESTHER ZORIO GRIMA (Cardiología)

Dra. BELEN BELTRAN NICLOS (Medicina Digestiva)

Dra. INMACULADA CALVO PENADES (Reumatología Pediátrica)

Dr. JOSE VICENTE CASTELL RIPOLL (Hepatología Experimental)

Dra. MARIA JOSE GOMEZ-LECHON MOLINER (Investigadora del Grupo Acreditado en Hepatología Experimental)
Dr. JOSE LOPEZ ALDEGUER (Enfermedades Infecciosas)
Dr. JAVIER PEGAN GARCIA (Investigador del Grupo Acreditado multidisciplinar para el estudio de la Infección Grave)
Dr. ALFREDO PERALES MARIN (Jefe de Servicio - Obstetricia)
Dra. PILAR SAENZ GONZALEZ (Neonatología)
Dr. MELCHOR HOYOS GARCIA ()
Dra. BEGOÑA POLO MIQUEL (Gastroenterología Pediátrica)
Dr. ISIDRO VITORIA MIÑANA (Pediatria)
Dra. EUGENIA PAREJA IBARS (Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático)
Dr. JAIME SANZ CABALLER (Investigador del Grupo Acreditado en Hematología y Hemoterapia)
Dra. PILAR SEPULVEDA SANCHIS (Cardiocrinológico)
Dra. MARIA LUISA MARTINEZ TRIGUERO (Análisis Clínicos)
Dra. MARIA TORDERA BAVIERA (Farmacéutica del Hospital)
Dr. ENRIQUE VIOSCA HERRERO (Jefe de Servicio - Medicina Física y Rehabilitación)
Dr. EDUARDO GARCIA-GRANERO XIMENEZ (Cirugía General y Digestivo)
Dr. RAFAEL BOTELLA ESTRADA (Dermatología)
Dr. OSCAR DIAZ CAMBRONERO (Anestesia y Reanimación)

Lo que firmo en Valencia, a 13 de septiembre de 2016



Fdo.: Don ~~Serafin~~ Rodríguez Capellán
Secretario del Comité Ético de Investigación Biomédica

Anexo II



MODELO DE CONSENTIMIENTO POR ESCRITO

Título del estudio: ESTUDIO PROTEÓMICO DEL ULTRAFILTRADO EN PACIENTES CON SHOCK SÉPTICO Y FRACASO RENAL

Yo, *(nombre y apellidos)*.

He leído la hoja de información que se me ha entregado.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: *(nombre del Investigador)*

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones.
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del Participante

Firma del Investigador

Nombre:
Fecha:

Nombre:
Fecha:

APACHE II Score

EVALUACIÓN FISIOLÓGICA AGUDA Y CRÓNICA II (APACHE II)

VARIABLES	RANGO ELEVADO			NORMAL			RANGO BAJO		
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperatura rectal (°C)	>41	39-40.9		38.5-38.9	36-39.4	34-35.9	32-33.9	30-31.9	<29.9
Presión arterial media (mm Hg)	>160	130-159	110-129		70-109		50-69		<49
Frecuencia cardíaca ventricular (lpm)	>180	140-179	110-139		70-109		50-69	40-54	<39
Frecuencia respiratoria (rpm)	>50	35-49		25-34		10-11	6-9		<5
Oxigenación (Valorar A ó B)									
> A.-Si FI O ₂ >0.5, D ₅₀ O ₂	>500	350-499	200-349		<200				
> B.-Si FI O ₂ <0.5, paO ₂ (mm Hg)	>7.70	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49	61-70		55-60	<55
pH arterial	>180	160-179	155-159	150-154	130-149		7.25-7.32	7.15-7.24	<7.15
Natremia (mEq/l)	>7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9	111-119	<110
Kaliemia (mEq/l)	>3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		<2.5
Creatinina (mg/dl) (doble si FRA)	>60	50-59.0	46-49.9	30-45.9			20-29.9		<20
Hematocrito (%)	>40	20-39.9	15-19.9	3-14.9			1-2.9		<1
Leucocitos (/mm ³ x 1000)									
GCS (15 - puntuación del paciente)	>52	41-51.9		32-40.9	22-31.9			18-21.9	15-17.9
Si no GSA, HCO ₃ venoso									

A: APS total = Suma de las doce variables individuales

APACHE II TOTAL = A + B + C.

Años	B.-Puntuación por edad		C.-Puntuación por enfermedad crónica	
	Puntos	Si H ^a de insuficiencia orgánica sistémica o está inmunocomprometido:	Respiratorio:	Renal:
≤44	0	a) postoperados, urgentes o no quirúrgicos: 5 b) cirugía electiva: 2.	Restringir ejercicio (incapacidad para subir escaleras o hacer tareas domésticas), o hipoxia crónica probada, hipercapnia, policitemia 2 ^{da} , HT pulmonar severa (>40 mmHg), o dependencia respiratoria	Renal: Hemodializados
45-54	2	Definiciones: evidencia de insuficiencia orgánica o inmunocompromiso previa al ingreso según los siguientes criterios:		Inmunocomprometidos: que haya recibido terapia que suprima la resistencia a la infección (inmunosupresión, quimioterapia, radiación, esteroides crónicos o altas dosis recitantes) o que padezca enfermedad, suficientemente avanzada para inmunodeprimir (Leucemia, ligfoma, SIDA,...)
55-64	3	Hígado: Cirrosis (con biopsia), HTP comprobada, antecedentes de HDA por HTP o episodios previos de fallo hepático, coma o encefalopatía.		
65-74	5	Cardiovascular: Clase IV de la NYHA		
≥75	6			

D.-O: diferencia alveolo-arterial de O₂; paO₂: presión parcial arterial de O₂; FRA: fracaso renal agudo; GCS: escala de comas de Glasgow; GSA: gasometría arterial; H^a: historia; HTP: hipertensión portal; HDA: hemorragia digestiva aguda; NYHA: clasificación funcional de la New York Heart Association. Kraus WA, Draper EA, et al.: "APACHE-II: a severity of disease classification system". Critical Care Medicine 1986; 13:816-829.

Anexo IV

SAPS 3

SIMPLIFIED ACUTE PHYSIOLOGY SCORE 3 (SAPS 3)

PARÁMETROS		RESULTADOS	PUNTOS
Edad (años)		<40	16
		40-59	21
		60-69	25
		70-74	29
		75-79	31
		≥80	34
Tiempo ingreso antes de UCI (días)		<14	16
		14-27	22
		≥28	23
Lugar ingreso antes de UCI		Quirófano	16
		Urgencias	21
		Otra UCI	23
		Otros (planta...)	24
Comorbilidad	Tratamiento antineoplásico	No	16
		Sí	19
	Cáncer	No	16
		Sí	27
	Cáncer hematológico	No	16
		Sí	22
	Insuficiencia cardíaca NYHA IV	No	16
		Sí	22
	Cirrosis	No	16
		Sí	24
VIH	No	16	
	Sí	24	
Drogas vasoactivas	No	16	
	Sí	19	
Admisión UCI		Prevista	16
		Imprevista	19
Motivo de admisión en UCI	Cardiovascular	Arritmias	11
		Otras	16
		Shock hipovolémico	19
		Shock séptico	21
		Shock anafiláctico	21
	Hepática	Otras	16
		Fallo hepático	22
	Digestiva	Otras	16
		Abdomen agudo	19
		Pancreatitis grave	25
	Neurológica	Convulsiones	12
		Otras	16
		Coma/delirio/agitación/confusión	20
		Focalidad neurológica	23
	Efecto masa intracraneal	26	

Cirugía al ingreso en UCI		Programada	16
		No quirúrgico	21
		Urgente	22
Localización de cirugía		Trasplante	5
		Trauma / politrauma	8
		Cardíaca	10
		Otra	16
		Neurocirugía: AVCA	21
Infección aguda al ingreso en UCI	Nosocomial	No	16
		Sí	20
	Respiratoria	No	16
		Sí	21
Glasgow Coma Score		≥13	16
		12-7	18
		6	23
		3-5	26
Bilirrubina total (mg/dL)		<2	16
		≥2 y <6	20
		≥6	21
Temperatura corporal		≥35	16
		<35	23
Creatinina (mg/dL)		1,2	16
		≥1,2 y <2	18
		≥2 y <3,5	23
		≥3,5	24
Frecuencia cardíaca (lpm)		<120	16
		≥20.000 y <50.000	21
		≥160	23
Leucocitos/mm ³		<15.000	16
		≥15.000	18
pH		>7,25	16
		≤7,25	19
Plaquetas/mm ³		<20.000	29
		≥20.000 y <50.000	24
		≥50.000 y <100.000	21
		≥100.000	16
Presión arterial sistólica (mm Hg)		≥120	16
		≥70 y <120	19
		≥40 y <70	24
		<40	27
pO ₂ (mm Hg) o pO ₂ /FiO ₂		pO ₂ ≥60 sin VM	16
		pO ₂ <60 sin VM	32
		pO ₂ /FiO ₂ ≥100 con VM	34
		pO ₂ /FiO ₂ <100 con VM	38

NYHA: clasificación funcional de la New York Heart Association; VIH: infección por virus de la inmunodeficiencia humana; AVCA: accidente vascular cerebral agudo; pO₂: presión parcial arterial de O₂; VM: ventilación mecánica; /FiO₂: fracción inspiratoria de O₂.

Puntuación: mínimo 16, máximo 229.

Anexo V

Nombres de las proteínas plasmáticas y del ultrafiltrado identificadas con su peso molecular

Proteínas identificadas en plasma

Acc	ID	Protein names	Mass, kDa
P04114	APOB_HUMAN	Apolipoprotein B-100 (Apo B-100) [Cleaved into: Apolipoprotein B-48 (Apo B-48)]	515,605
P0C0L4	CO4A_HUMAN	Complement C4-A (Acidic complement C4) (C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 2) [Cleaved into: Complement C4 beta chain; Complement C4-A alpha chain; C4a anaphylatoxin; C4b-A; C4d-A; Complement C4 gamma chain]	192,785
P01023	A2MG_HUMAN	Alpha-2-macroglobulin (Alpha-2-M) (C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 5)	163,291
P01031	CO5_HUMAN	Complement C5 (C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 4) [Cleaved into: Complement C5 beta chain; Complement C5 alpha chain; C5a anaphylatoxin; Complement C5 alpha chain]	188,305
P00450	CERU_HUMAN	Ceruloplasmin (EC 1.16.3.1) (Ferroxidase)	122,205
P02675	FIBB_HUMAN	Fibrinogen beta chain [Cleaved into: Fibrinopeptide B; Fibrinogen beta chain]	55,928
P19823	ITIH2_HUMAN	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2 (ITI heavy chain H2) (ITI-HC2) (inter-alpha-inhibitor heavy chain 2) (inter-alpha-trypsin inhibitor complex component II) (Serum-derived hyaluronan-associated protein) (SHAP)	106,463
P04275	VWF_HUMAN	von Willebrand factor (vWF) [Cleaved into: von Willebrand antigen 2 (von Willebrand antigen II)]	309,265
P00734	THRB_HUMAN	Prothrombin (EC 3.4.21.5) (Coagulation factor II) [Cleaved into: Activation peptide fragment 1; Activation peptide fragment 2; Thrombin light chain; Thrombin heavy chain]	70,037
P43652	AFAM_HUMAN	Afamin (Alpha-albumin) (Alpha-Alb)	69,069
P10643	CO7_HUMAN	Complement component C7	93,518
P05155	IC1_HUMAN	Plasma protease C1 inhibitor (C1 Inh) (C1 inh) (C1 esterase inhibitor) (C1-inhibiting factor) (Serpin G1)	55,154
P05156	CFAI_HUMAN	Complement factor I (EC 3.4.21.45) (C3B/C4B inactivator) [Cleaved into: Complement factor I heavy chain; Complement factor I light chain]	65,75
P13671	CO6_HUMAN	Complement component C6	104,786
P04004	VTNC_HUMAN	Vitronectin (VN) (S-protein) (Serum-spreading factor) (V75) [Cleaved into: Vitronectin V65 subunit; Vitronectin V10 subunit; Somatomedin-B]	54,306
P02743	SAMP_HUMAN	Serum amyloid P-component (SAP) (9.5S alpha-1-glycoprotein) [Cleaved into: Serum amyloid P-component (1-203)]	25,387
P00736	CLIR_HUMAN	Complement C1r subcomponent (EC 3.4.21.41) (Complement component 1 subcomponent r) [Cleaved into: Complement C1r subcomponent heavy chain; Complement C1r subcomponent light chain]	80,119
P10909	CLUS_HUMAN	Clusterin (Aging-associated gene 4 protein) (Apolipoprotein J) (Apo-J) (Complement cytolysis inhibitor) (CLI) (Complement-associated protein SP-40/40) (Ku70-binding protein 1) (NA1/NA2) (Sulfated glycoprotein 2) (SGP-2) (Testosterone-repressed prostate message 2) (TRPM-2) [Cleaved into: Clusterin beta chain (Apolalapha) (Complement cytolysis inhibitor a chain), Clusterin alpha chain (Apolibeta) (Complement cytolysis inhibitor b chain)]	52,495

P04003	C4BPA_HUMAN	C4b-binding protein alpha chain (C4bp) (Proline-rich protein) (PRP)	67,033
P01871	IGHM_HUMAN	Immunoglobulin heavy constant mu (Ig mu chain C region) (Ig mu chain C region BOT) (Ig mu chain C region GAL) (Ig mu chain C region OU)	49,44
P35858	ALS_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit (ALS)	66,035
P09871	C1S_HUMAN	Complement C1s subcomponent (EC 3.4.21.42) (C1 esterase) (Complement component 1 subcomponent s) [Cleaved into: Complement C1s subcomponent heavy chain; Complement C1s subcomponent light chain]	76,684
POD0X7	IGK_HUMAN	Immunoglobulin kappa light chain (Immunoglobulin kappa light chain EU)	23,379
P05546	HEP2_HUMAN	Heparin cofactor 2 (Heparin cofactor II) (HC-II) (Protease inhibitor I) (Serpin D1)	57,071
P18428	LBP_HUMAN	Lipopolysaccharide-binding protein (LBP)	53,384
P07358	CO8B_HUMAN	Complement component C8 beta chain (Complement component 8 subunit beta)	67,047
P20742	PZP_HUMAN	Pregnancy zone protein (C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 6)	163,863
P22792	CPN2_HUMAN	Carboxypeptidase N subunit 2 (Carboxypeptidase N 83 kDa chain) (Carboxypeptidase N large subunit) (Carboxypeptidase N polypeptide 2) (Carboxypeptidase N regulatory subunit)	60,557
Q16610	ECM1_HUMAN	Extracellular matrix protein 1 (Secretory component p85)	60,674
O00391	CSOX1_HUMAN	Sulphydryl oxidase 1 (hSOX) (EC 1.8.3.2) (Quiescin Q6)	82,578
P24821	TENA_HUMAN	Tenascin (TN) (Cytotactin) (GMEM) (GP 150-225) (Glioma-associated-extracellular matrix antigen) (Hexabrachion) (H) (Myotendinous antigen) (Neuronectin) (Tenascin-C) (TN-C)	240,853
P05160	F13B_HUMAN	Coagulation factor XIII B chain (Fibrin-stabilizing factor B subunit) (Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase B chain) (Transglutaminase B chain)	75,511
POD0X8	IGL1_HUMAN	Immunoglobulin lambda-1 light chain (Immunoglobulin lambda-1 light chain MCG)	22,83
O75636	FCN3_HUMAN	Ficolin-3 (Collagen/fibrinogen domain-containing lectin 3 p35) (Collagen/fibrinogen domain-containing protein 3) (Hakata antigen)	32,903
Q9Y6R7	FCGBP_HUMAN	IgGFc-binding protein (Fcgamma-binding protein antigen) (FcgammaBP)	572,017
POD0X5	IGG1_HUMAN	Immunoglobulin gamma-1 heavy chain (Immunoglobulin gamma-1 heavy chain NIE)	49,329
P00748	FA12_HUMAN	Coagulation factor XII (EC 3.4.21.38) (Hageman factor) (HAF) [Cleaved into: Coagulation factor XIIa heavy chain; Beta-factor XIIa part 1; Coagulation factor XIIa light chain (Beta-factor XIIa part 2)]	67,792
P05543	THBG_HUMAN	Thyroxine-binding globulin (Serpin A7) (T4-binding globulin)	46,325
P31327	CPSM_HUMAN	Carbamoyl-phosphate synthase [ammonia], mitochondrial (EC 6.3.4.16) (Carbamoyl-phosphate synthetase I) (CPSase I)	164,939
P80108	PHLD_HUMAN	Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D (PLG PLD) (EC 3.1.4.50) (Glycoprotein phospholipase D) (Glycosyl-phosphatidylinositol-specific phospholipase D) (GPI-PLD) (GPI-specific phospholipase D)	92,336

P12259	FA5_HUMAN	Coagulation factor V (Activated protein C cofactor) (Proaccelerin, labile factor) [Cleaved into: Coagulation factor V heavy chain; Coagulation factor V light chain]	251,703
P15169	CBPN_HUMAN	Carboxypeptidase N catalytic chain (CPN) (EC 3.4.17.3) (Anaphylatoxin inactivator) (Arginine carboxypeptidase) (Carboxypeptidase N polypeptide 1) (Carboxypeptidase N small subunit) (Kininase-1) (Lysine carboxypeptidase) (Plasma carboxypeptidase B) (Serum carboxypeptidase N) (SCFN)	52,286
P05062	ALDOB_HUMAN	Fructose-bisphosphate aldolase B (EC 4.1.2.13) (Liver-type aldolase)	39,473
Q96PD5	PGRP2_HUMAN	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase (EC 3.5.1.28) (Peptidoglycan recognition protein 2) (Peptidoglycan recognition protein long) (PGRP-L)	62,217
P02746	C1QB_HUMAN	Complement C1q subcomponent subunit B	26,722
P22352	GPX3_HUMAN	Glutathione peroxidase 3 (GPx-3) (GSHPx-3) (EC 1.11.1.9) (Extracellular glutathione peroxidase) (Plasma glutathione peroxidase) (GPx-P) (GSHPx-P)	25,552
Q9GIY4	CBPB2_HUMAN	Carboxypeptidase B2 (EC 3.4.17.20) (Carboxypeptidase U) (CPU) (Plasma carboxypeptidase B) (pCPB) (Thrombin-activable fibrinolysis inhibitor) (TAFI)	48,424
P08519	APOA_HUMAN	Apolipoprotein(a) (Apo(a)) (Lp(a)) (EC 3.4.21.-)	501,319
P27169	PON1_HUMAN	Serum paraoxonase/arylesterase 1 (PON 1) (EC 3.1.1.2) (EC 3.1.1.81) (EC 3.1.1.8.1) (Aromatic esterase 1) (A-esterase 1) (K-45) (Serum arylalkylphosphatase 1)	39,731
P03952	KLKB1_HUMAN	Plasma kallikrein (EC 3.4.21.34) (Fletcher factor) (Kininogenin) (Plasma prekallikrein) (PKK) [Cleaved into: Plasma kallikrein heavy chain; Plasma kallikrein light chain]	71,37
P25787	PSA2_HUMAN	Proteasome subunit alpha type-2 (Macropain subunit C3) (Multicatalytic endopeptidase complex subunit C3) (Proteasome component C3)	25,899
Q9JUK5	ZPI_HUMAN	Protein Z-dependent protease inhibitor (PZ-dependent protease inhibitor) (PZI) (Serpin A10)	50,707
O75882	ATRN_HUMAN	Attractin (DPPT-L) (Mahogany homolog)	158,537
Q9Y490	TLN1_HUMAN	Talin-1	269,767
P07225	PROS_HUMAN	Vitamin K-dependent protein S	75,123
P63104	1433Z_HUMAN	14-3-3 protein zeta/delta (Protein kinase C inhibitor protein 1) (KCIP-1)	27,745
P05090	APOD_HUMAN	Apolipoprotein D (Apo-D) (ApoD)	21,276
P00488	F13A_HUMAN	Coagulation factor XIII A chain (Coagulation factor XIIIa) (EC 2.3.2.13) (Protein-glutamine gamma-glutamyltransferase A chain) (Transglutaminase A chain)	83,267
P05154	IPSP_HUMAN	Plasma serine protease inhibitor (Acrosomal serine protease inhibitor) (Plasminogen activator inhibitor 3) (PAI-3) (PAI3) (Protein C inhibitor) (PC) (Serpin A5)	45,675
P02747	C1QC_HUMAN	Complement C1q subcomponent subunit C	25,774
P02655	APOC2_HUMAN	Apolipoprotein C-II (Apo-C-II) (Apolipoprotein C2) [Cleaved into: Proapolipoprotein C-II (ProapoC-II)]	11,284

P23142	FBLN1_HUMAN	Fibulin-1 (FBL-1)	77,214
P06737	PYGI_HUMAN	Glycogen phosphorylase , liver form (EC 2.4.1.1)	97,149
P60174	TPIS_HUMAN	Triosephosphate isomerase (TIM) (EC 5.3.1.1) (Methylglyoxal synthase) (EC 4.2.3.3) (Triose-phosphate isomerase)	26,669
P23141	EST1_HUMAN	Liver carboxylesterase 1 (Acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase) (ACAT) (Brain carboxylesterase hBr1) (Carboxylesterase 1) (CE-1) (hCE-1) (EC 3.1.1.1) (Cholesteryl ester hydrolase) (CEH) (EC 3.1.1.13) (Cocaine carboxylesterase) (Egasyrn) (HMSE) (Methylumbelliferyl-acetate deacetylase 1) (EC 3.1.1.56) (Monocyte/macrophage serine esterase) (Retinyl ester hydrolase) (REH) (Serine esterase 1) (Triacylglycerol hydrolase) (TGH)	62,521
P02745	CIQA_HUMAN	Complement C1q subcomponent subunit A	26,017
P00325	ADH1B_HUMAN	All-trans-retinol dehydrogenase [NAD (+)] ADH1B (EC 1.1.1.105) (Alcohol dehydrogenase 1B) (Alcohol dehydrogenase subunit beta)	39,855
Q08380	LG3BP_HUMAN	Galectin-3-binding protein (Basement membrane autoantigen p105) (Lectin galactoside-binding soluble 3-binding protein) (Mac-2-binding protein) (MAC2BP) (Mac-2 BP) (Tumor-associated antigen 90K)	65,331
P78417	GSTO1_HUMAN	Glutathione S-transferase omega-1 (GSTO-1) (EC 2.5.1.18) (Glutathione S-transferase omega 1-1) (GSTO 1-1) (Glutathione-dependent dehydroascorbate reductase) (EC 1.8.5.1) (Monomethylarsonic acid reductase) (MMA(V) reductase) (EC 1.20.4.2) (S-(Phenacyl)glutathione reductase) (SPG-R)	27,566
P00352	AL1A1_HUMAN	Retinal dehydrogenase 1 (RALDH 1) (Raldh1) (EC 1.2.1.-) (EC 1.2.1.36) (ALDH-E1) (ALHDII) (Aldehyde dehydrogenase family 1 member A1) (Aldehyde dehydrogenase, cytosolic)	54,862
Q92954	PRG4_HUMAN	Proteoglycan 4 (Lubricin) (Megakaryocyte-stimulating factor) (Superficial zone proteoglycan) [Cleaved into: Proteoglycan 4 C-terminal part]	151,061
P09467	F16P1_HUMAN	Fructose-1,6-bisphosphatase 1 (FBPase 1) (EC 3.1.3.11) (D-fructose-1,6-bisphosphate 1-phosphohydrolase 1) (Liver FBPase)	36,842
Q04756	HGFA_HUMAN	Hepatocyte growth factor activator (HGF activator) (HGFA) (EC 3.4.21.-) [Cleaved into: Hepatocyte growth factor activator short chain; Hepatocyte growth factor activator long chain]	70,682
P08185	CBG_HUMAN	Corticosteroid-binding globulin (CBG) (Serpine A6) (Transcortin)	45,141
P04179	SODM_HUMAN	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial (EC 1.15.1.1)	24,75
P04278	SHBG_HUMAN	Sex hormone-binding globulin (SHBG) (Sex steroid-binding protein) (SBP) (Testis-specific androgen-binding protein) (ABP) (Testosterone-estradiol-binding globulin) (TEBG) (Testosterone-estrogen-binding globulin)	43,779
P08319	ADH4_HUMAN	All-trans-retinol dehydrogenase [NAD (+)] ADH4 (EC 1.1.1.105) (Alcohol dehydrogenase 4) (Alcohol dehydrogenase class II pi chain)	40,222
P14543	NID1_HUMAN	Nidogen-1 (NID-1) (Entactin)	136,377
O00187	MASP2_HUMAN	Mannan-binding lectin serine protease 2 (EC 3.4.21.104) (MBL-associated serine protease 2) (Mannose-binding protein-associated serine protease 2) (MASP-2) [Cleaved into: Mannan-binding lectin serine protease 2 A chain; Mannan-binding lectin serine protease 2 B chain]	75,702
P17174	AATC_HUMAN	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic (ASpAT) (EC 2.6.1.1) (EC 2.6.1.3) (Cysteine aminotransferase, cytoplasmic) (Cysteine transaminase, cytoplasmic) (CCAT) (Glutamate oxaloacetate transaminase 1) (Transaminase A)	46,248

P05362	ICAM1_HUMAN	Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) (Major group rhinovirus receptor) (CD antigen CD54)	57,825
P11021	BIP_HUMAN	Endoplasmic reticulum chaperone BIP (EC 3.6.4.10) (78 kDa glucose-regulated protein) (GRP-78) (Binding-immunoglobulin protein) (BiP) (Heat shock protein 70 family protein 5) (HSP70 family protein 5) (Heat shock protein family A member 5) (Immunoglobulin heavy chain-binding protein)	72,333
P62805	H4_HUMAN	Histone H4	11,367
P07357	C08A_HUMAN	Complement component C8 alpha chain (Complement component 8 subunit alpha)	65,163
Q06520	ST2A1_HUMAN	Bile salt sulfotransferase (EC 2.8.2.14) (Dehydroepiandrosterone sulfotransferase) (DHEA-ST) (Hydroxysteroid Sulfotransferase) (HST) (ST2) (ST2A3) (Sulfotransferase 2A1) (ST2A1)	33,78
P22105	TENX_HUMAN	Tenascin-X (TN-X) (Hexabrachion-like protein)	458,388
P06733	ENOA_HUMAN	Alpha-enolase (EC 4.2.1.11) (2-phospho-D-glycerate hydro-lyase) (C-myc promoter-binding protein) (Enolase 1) (MBP-1) (MPB-1) (Non-neural enolase) (NNE) (Phosphopyruvate hydratase) (Plasminogen-binding protein)	47,169
Q93088	BHMT1_HUMAN	Betaine-homocysteine S-methyltransferase 1 (EC 2.1.1.5)	44,998
P02652	APOA2_HUMAN	Apolipoprotein A-II (ApoA-II) (ApoA-II) (Apolipoprotein A2) [Cleaved into: Proapolipoprotein A-II (ProapoA-II); Truncated apolipoprotein A-II (Apolipoprotein A-II(1-76))]	11,175
P14625	ENPL_HUMAN	Endoplasmic (94 kDa glucose-regulated protein) (GRP-94) (Heat shock protein 90 kDa beta member 1) (Tumor rejection antigen 1) (gp96 homolog)	92,469
P01591	IGL_HUMAN	Immunoglobulin J chain (Joining chain of multimeric IgA and IgM)	18,099
O14818	PSA7_HUMAN	Proteasome subunit alpha type-7 (Proteasome subunit RC6-1) (Proteasome subunit XAPC7)	27,887
P06702	S10A9_HUMAN	Protein S100-A9 (Calgranulin-B) (Calprotectin L1H subunit) (Leukocyte L1 complex heavy chain) (Migration inhibitory factor-related protein 14) (MRP-14) (p14) (S100 calcium-binding protein A9)	13,242
Q14914	PTGR1_HUMAN	Prostaglandin reductase 1 (PRG-1) (15-oxoprostaglandin 13-reductase) (EC 1.3.1.48) (Dithiolethione-inducible gene 1 protein) (D3T-inducible gene 1 protein) (DIG-1) (Leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase) (NAD(P)H-dependent alkenal/one oxidoreductase) (EC 1.3.1.74)	35,87
P55058	PLTP_HUMAN	Phospholipid transfer protein (Lipid transfer protein II)	54,739
P02792	FRIL_HUMAN	Ferritin light chain (Ferritin L subunit)	20,02
P07900	HS90A_HUMAN	Heat shock protein HSP 90-alpha (Heat shock 86 kDa) (HSP 86) (HSP86) (Lipopolysaccharide-associated protein 2) (LAP-2) (LPS-associated protein 2) (Renal carcinoma antigen NY-REN-38)	84,66
P04040	CATA_HUMAN	Catalase (EC 1.11.1.6)	59,756
P19320	VCAM1_HUMAN	Vascular cell adhesion protein 1 (V-CAM 1) (VCAM-1) (INCAM-100) (CD antigen CD106)	81,276
Q03154	ACY1_HUMAN	Aminocyclase-1 (ACY-1) (EC 3.5.1.14) (N-acyl-L-amino-acid amidohydrolase)	45,885

P32754	HPPD_HUMAN	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (EC 1.13.11.27) (4-hydroxyphenylpyruvic acid oxidase) (4HPPD) (HPD) (HPPDase)	44,934
P25789	PSA4_HUMAN	Proteasome subunit alpha type-4 (Macropain subunit C9) (Multicatalytic endopeptidase complex subunit C9) (Proteasome component C9) (Proteasome subunit L)	29,484
Q6EMK4	VASN_HUMAN	Vasorin (Protein slit-like 2)	71,713
P07195	LDHB_HUMAN	L-lactate dehydrogenase B chain (LDH-B) (EC 1.1.1.27) (LDH heart subunit) (LDH-H) (Renal carcinoma antigen NY-REN-46)	36,638
Q08257	QOR_HUMAN	Quinone oxidoreductase (EC 1.6.5.5) (NADPH: quinone reductase) (Zeta-crystallin)	35,207
P07988	PSPB_HUMAN	Pulmonary surfactant-associated protein B (SP-B) (18 kDa pulmonary-surfactant protein) (6 kDa protein) (Pulmonary surfactant-associated proteolipid SP(L)(Phe))	42,117
P00338	LDHA_HUMAN	L-lactate dehydrogenase A chain (LDH-A) (EC 1.1.1.27) (Cell proliferation-inducing gene 19 protein) (LDH muscle subunit) (LDH-M) (Renal carcinoma antigen NY-REN-59)	36,689
P04424	ARLY_HUMAN	Argininosuccinate lyase (ASAL) (EC 4.3.2.1) (Arginosuccinase)	51,658
P11226	MBL2_HUMAN	Mannose-binding protein C (MBP-C) (Collectin-1) (MBP1) (Mannan-binding protein) (Mannose-binding lectin)	26,144
P60900	PSA6_HUMAN	Proteasome subunit alpha type-6 (27 kDa prosomal protein) (PROS-27) (p27K) (Macropain iota chain) (Multicatalytic endopeptidase complex iota chain) (Proteasome iota chain)	27,399
Q15848	ADIPO_HUMAN	Adiponectin (30 kDa adipocyte complement-related protein) (Adipocyte complement-related 30 kDa protein) (ACRP30) (Adipocyte, C1q and collagen domain-containing protein) (Adipose most abundant gene transcript 1 protein) (apM-1) (Gelatin-binding protein)	26,414
Q14520	HABP2_HUMAN	Hyaluronan-binding protein 2 (EC 3.4.21.-) [Factor VII-activating protease] (Factor seven-activating protease) (FSAP) (Hepatocyte growth factor activator-like protein) (Plasma hyaluronan-binding protein) [Cleaved into: Hyaluronan-binding protein 2 50 kDa heavy chain; Hyaluronan-binding protein 2 50 kDa heavy chain alternate form; Hyaluronan-binding protein 2 27 kDa light chain; Hyaluronan-binding protein 2 27 kDa light chain alternate form]	62,672
P00740	FA9_HUMAN	Coagulation factor IX (EC 3.4.21.22) (Christmas factor) (Plasma thromboplastin component) (PTC) [Cleaved into: Coagulation factor IXa light chain; Coagulation factor IXa heavy chain]	51,778
Q13822	ENPP2_HUMAN	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2 (E-NPP 2) (EC 3.1.4.39) (Autotaxin) (Extracellular lysophospholipase D) (LysopLD)	98,994
P15144	AMPN_HUMAN	Aminopeptidase N (AP-N) (hAPN) (EC 3.4.11.2) (Alanyl aminopeptidase) (Aminopeptidase M) (AP-M) (Microsomal aminopeptidase) (Myeloid plasma membrane glycoprotein CD13) (gp150) (CD antigen CD13)	109,54
P48740	MASP1_HUMAN	Mannan-binding lectin serine protease 1 (EC 3.4.21.-) (Complement factor MASP-3) (Complement-activating component of Re-reactive factor) (Mannose-binding lectin-associated serine protease 1) (MASP-1) (Mannose-binding protein-associated serine protease) (Ra-reactive factor serine protease p100) (RaRF) (Serine protease 5) [Cleaved into: Mannan-binding lectin serine protease 1 heavy chain; Mannan-binding lectin serine protease 1 light chain]	79,247
P43251	BTD_HUMAN	Biotinidase (Biotinase) (EC 3.5.1.12)	61,133
P16930	FAAA_HUMAN	Fumarylacetoacetase (FAA) (EC 3.7.1.2) (Beta-diketonease) (Fumarylacetoacetate hydrolase)	46,374

O95445	APOM_HUMAN	Apolipoprotein M (Apo-M) (ApoM) (Protein G3a)	21,253
Q9BWD1	THIC_HUMAN	Acetyl-CoA acetyltransferase, cytosolic (EC 2.3.1.9) (Acetyl-CoA transferase-like protein) (Cytosolic acetoacetyl-CoA thiolase)	41,351
P25788	PSA3_HUMAN	Proteasome subunit alpha type-3 (Macropain subunit C8) (Multicatalytic endopeptidase complex subunit C8) (Proteasome component C8)	28,433
P62258	1433E_HUMAN	14-3-3 protein epsilon (14-3-3E)	29,174
P06732	KCRM_HUMAN	Creatine kinase M-type (EC 2.7.3.2) (Creatine kinase M chain) (Creatine phosphokinase M-type) (CPK-M) (M-CK)	43,101
Q16851	UGPA_HUMAN	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase (EC 2.7.7.9) (UDP-glucose pyrophosphorylase) (UDPPGP) (UGPase)	56,94
P20618	PSB1_HUMAN	Proteasome subunit beta type-1 (EC 3.4.25.1) (Macropain subunit C5) (Multicatalytic endopeptidase complex subunit C5) (Proteasome component C5) (Proteasome gamma chain)	26,489
Q15582	BGH3_HUMAN	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3 (Beta ig-h3) (kerato-epithelin) (RGD-containing collagen-associated protein) (RGD-CAP)	74,681
P07359	GP1BA_HUMAN	Platelet glycoprotein Ib alpha chain (GP-Ib alpha) (GPIb-alpha) (GPIb) (Glycoprotein Ibalpha) (Antigen CD42b-alpha) (CD antigen CD42b) (Cleaved into: Glycocalcin)	71,54
P02042	HBD_HUMAN	Hemoglobin subunit delta (Delta-globin) (Hemoglobin delta chain)	16,055
P01877	IGHA2_HUMAN	Immunoglobulin heavy constant alpha 2 (Ig alpha-2 chain C region) (Ig alpha-2 chain C region BUT) (Ig alpha-2 chain C region LAN)	36,591
P00918	CAH2_HUMAN	Carbonic anhydrase 2 (EC 4.2.1.1) (Carbonate dehydratase II) (Carbonic anhydrase C) (CAC) (Carbonic anhydrase II) (CA-II)	29,246
O00299	CLIC1_HUMAN	Chloride intracellular channel protein 1 (Chloride channel ABP) (Nuclear chloride ion channel 27) (NCC27) (Regulatory nuclear chloride ion channel protein) (hRNCC)	26,923
P07333	CSF1R_HUMAN	Macrophage colony-stimulating factor 1 receptor (CSF-1 receptor) (CSF-1R) (M-CSF-R) (EC 2.7.10.1) (Proto-oncogene c-Fms) (CD antigen CD115)	107,984
O14786	NRP1_HUMAN	Neuropilin-1 (Vascular endothelial cell growth factor 165 receptor) (CD antigen CD304)	103,134
Q724W1	DCXR_HUMAN	L-xylulose reductase (XR) (EC 1.1.1.10) (Carbonyl reductase II) (Dicarbonyl/L-xylulose reductase) (Kidney dicarbonyl reductase) (kIDCR) (Short chain dehydrogenase/reductase family 20C member 1) (Sperm surface protein P34H)	25,913
Q08830	FGL1_HUMAN	Fibrinogen-like protein 1 (HP-041) (Hepassocin) (HPS) (Hepatocyte-derived fibrinogen-related protein 1) (HFREP-1) (Liver fibrinogen-related protein 1) (LFIRE-1)	36,379
P23528	COF1_HUMAN	Cofilin-1 (18 kDa phosphoprotein) (p18) (Cofilin, non-muscle isoform)	18,502
P09972	ALDOC_HUMAN	Fructose-bisphosphate aldolase C (EC 4.1.2.13) (Brain-type aldolase)	39,456
O14791	APOL1_HUMAN	Apolipoprotein L1 (Apolipoprotein L) (Apo-L) (ApoL) (Apolipoprotein L-1) (ApoL-1)	43,974
P33151	CADH5_HUMAN	Cadherin-5 (7B4 antigen) (Vascular endothelial cadherin) (VE-cadherin) (CD antigen CD144)	87,528
P30041	PRDX6_HUMAN	Peroxiredoxin-6 (EC 1.11.1.27) (L-Cys peroxidoxin) (L-Cys PRX) (24 kDa protein) (Acidic calcium-independent phospholipase A2) (aIPLA2) [EC 3.1.1.4] (Antioxidant protein 2) (Glutathione-dependent peroxidoxin) (Liver 2D page spot 40) (Non-selenium glutathione peroxidase) (NSGPx) (Red blood cells page spot 12)	25,035

P26038	MOES_HUMAN	Moesin (Membrane-organizing extension spike protein)	67,82
P61604	CH10_HUMAN	10 kDa heat shock protein , mitochondrial (Hsp10) (10 kDa chaperonin) (Chaperonin 10) (CPN10) (Early-pregnancy factor) (EPF)	10,932
Q92820	GGH_HUMAN	Gamma-glutamyl hydrolase (EC 3.4.19.9) (Conjugase) (GH) (Gamma-Glu-X carboxypeptidase)	35,964
P23470	PTPRG_HUMAN	Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma (Protein-tyrosine phosphatase gamma) (R-PTP-gamma) (EC 3.1.3.48)	162,003
P00558	PGK1_HUMAN	Phosphoglycerate kinase 1 (EC 2.7.2.3) (Cell migration-inducing gene 10 protein) (Primer recognition protein 2) (PRP 2)	44,615
P01599	KV117_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1-17 (Ig kappa chain V-1 region Gal) (Ig kappa chain V-1 region WEA)	12,779
P29508	SPB3_HUMAN	Serpin B3 (Protein T4-A) (Squamous cell carcinoma antigen 1) (SCCA-1)	44,565
Q86VB7	C163A_HUMAN	Scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M130 (Hemoglobin scavenger receptor) (CD antigen CD163) [Cleaved into: Soluble CD163 (sCD163)]	125,451
P67936	TPM4_HUMAN	Tropomyosin alpha-4 chain (TM30p1) (Tropomyosin-4)	28,522
P21549	SPYA_HUMAN	Serine--pyruvate aminotransferase (SPT) [EC 2.6.1.51] (Alanine--glyoxylate aminotransferase) (AGT) [EC 2.6.1.44]	43,01
P09110	THIK_HUMAN	3-ketoacyl-CoA thiolase, peroxisomal [EC 2.3.1.16] (Acetyl-CoA acyltransferase) (Beta-ketothiolase) (Peroxisomal 3-oxoacyl-CoA thiolase)	44,292
P03951	FA11_HUMAN	Coagulation factor XI (FXI) [EC 3.4.21.2.7] (Plasma thromboplastin antecedent) (PTA) [Cleaved into: Coagulation factor XIa heavy chain; Coagulation factor XIa light chain]	70,109
P00367	DHE3_HUMAN	Glutamate dehydrogenase 1 , mitochondrial (GDH 1) [EC 1.4.1.3]	61,398
Q00796	DHSO_HUMAN	Sorbitol dehydrogenase (SDH) (EC 1.1.1.-) ((R,R)-butanediol dehydrogenase) [EC 1.1.1.4] (L-iditol 2-dehydrogenase) [EC 1.1.1.14] (Polyol dehydrogenase) (Ribitol dehydrogenase) (RDH) [EC 1.1.1.56] (Xylitol dehydrogenase) (XDH) [EC 1.1.1.9]	38,325
P26927	HGFL_HUMAN	Hepatocyte growth factor-like protein (Macrophage stimulatory protein) (Macrophage-stimulating protein) (MSP) [Cleaved into: Hepatocyte growth factor-like protein alpha chain; Hepatocyte growth factor-like protein beta chain]	80,32
P24752	THIL_HUMAN	Acetyl-CoA acetyltransferase , mitochondrial (EC 2.3.1.9) (Acetoacetyl-CoA thiolase) (T2)	45,2
P37837	TALDO_HUMAN	Transaldolase (EC 2.2.1.2)	37,54
Q06278	AOXA_HUMAN	Aldehyde oxidase (EC 1.2.3.1) (Aldehyde oxidase 1) (Azaheterocycle hydroxylase) [EC 1.17.3.-]	147,918
P17936	IBP3_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein 3 (IBP-3) (IGF-binding protein 3) (IGFBP-3)	31,674
P81605	DCD_HUMAN	Demcridin (EC 3.4.-.-) (Preproteolysin) [Cleaved into: Survival-promoting peptide; DCD-1]	11,284
P06276	CHLE_HUMAN	Cholinesterase (EC 3.1.1.8) (Acylcholine acetylcholinesterase) (Butyrylcholine esterase) (Choline esterase II) (Pseudocholinesterase)	68,418
P16152	CBR1_HUMAN	Carbonyl reductase [NADPH] 1 [EC 1.1.1.184] (15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase [NADP(+)]) [EC 1.1.1.196] [EC 1.1.1.197] (20-beta-hydroxysteroid dehydrogenase) (NADPH-dependent carbonyl reductase 1) (Prostaglandin 9-ketoreductase) (PG-9-KR) (Prostaglandin-E(2) 9-reductase) [EC 1.1.1.189] (Short chain dehydrogenase/reductase family 21C member 1)	30,375
P49720	PSB3_HUMAN	Proteasome subunit beta type-3 (EC 3.4.25.-) (Proteasome chain 13) (Proteasome component C10-II) (Proteasome theta chain)	22,949
Q9BXR6	FHR5_HUMAN	Complement factor H-related protein 5 (FHR-5)	64,419

P00480	OTC_HUMAN	Ornithine carbamoyltransferase, mitochondrial (EC 2.1.3.3) (Ornithine transcarbamylase) (OTCase)	39,935
P50395	GDI_B_HUMAN	Rab GDP dissociation inhibitor beta (Rab GDI beta) (Guanosine diphosphate dissociation inhibitor 2) (GDI-2)	50,663
P28066	PSA5_HUMAN	Proteasome subunit alpha type-5 (Macropain zeta chain) (Multicatalytic endopeptidase complex zeta chain) (Proteasome zeta chain)	26,411
P09172	DOPO_HUMAN	Dopamine beta-hydroxylase (EC 1.1.14.17.1) (Dopamine beta-monoxygenase) [Cleaved into: Soluble dopamine beta-hydroxylase]	69,065
Q9NQ79	CRAC1_HUMAN	Cartilage acidic protein 1 (68 kDa chondrocyte-expressed protein) (CEP-68) (ASPIC)	71,421
Q9BTM1	H2AJ_HUMAN	Histone H2A.1 (H2a/1)	14,019
P29401	TKT_HUMAN	Transketolase (TK) (EC 2.2.1.1)	67,878
P27918	PROP_HUMAN	Properdin (Complement factor P)	51,276
P26022	PTX3_HUMAN	Pentraxin-related protein PTX3 (Pentraxin-related protein PTX3) (Tumor necrosis factor alpha-induced protein 5) (TNF alpha-induced protein 5) (Tumor necrosis factor-inducible gene 14 protein) (TSG-14)	41,976
P16070	CD44_HUMAN	CD44 antigen (CDw44) (Epicam) (Extracellular matrix receptor III) (ECMR-III) (GP90 lymphocyte homing/adhesion receptor) (HUTCH-I) (Heparan sulfate proteoglycan) (Hermes antigen) (Hyaluronate receptor) (Phagocytic glycoprotein 1) (PGP-1) (Phagocytic glycoprotein I) (PGP-I) (CD antigen CD44)	81,538
P04439	HLAA_HUMAN	HLA class I histocompatibility antigen, A alpha chain (Human leukocyte antigen A) (HLA-A)	40,841
P0D0X3	IGD_HUMAN	Immunoglobulin delta heavy chain (Immunoglobulin delta heavy chain WAH)	56,224
P08637	FCG3A_HUMAN	Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor III-A (CD16a antigen) (Fc-gamma RIII-alpha) (Fc-gamma RIIIA) (Fc-gamma RIII) (FcRIIIa) (FcR-10) (IgG Fc receptor III-2) (CD antigen CD16a)	29,089
P07954	FUMIH_HUMAN	Fumarate hydratase, mitochondrial (Fumarase) (HsFH) (EC 4.2.1.2)	54,637
P04792	HSPB1_HUMAN	Heat shock protein beta-1 (HspB1) (28 kDa heat shock protein) (Estrogen-regulated 24 kDa protein) (Heat shock 27 kDa protein) (HSP 27) (Stress-responsive protein 27) (SRP27)	22,783
P04180	LCAT_HUMAN	Phosphatidylcholine-sterol acyltransferase (EC 2.3.1.43) (1-alkyl-2-acetylgllycerophosphocholine esterase) (EC 3.1.1.47) (Lectihin-cholesterol acyltransferase) (Phospholipid-cholesterol acyltransferase) (Platelet-activating factor acetylhydrolase) (PAF acetylhydrolase)	49,578
P00491	PNPH_HUMAN	Purine nucleoside phosphorylase (PNP) (EC 2.4.2.1) (Inosine phosphorylase) (Inosine-guanosine phosphorylase)	32,118
P43121	MUC18_HUMAN	Cell surface glycoprotein MUC18 (Cell surface glycoprotein P1H12) (Melanoma cell adhesion molecule) (Melanoma-associated antigen A32) (Melanoma-associated antigen MUC18) (S-endo 1 endothelial-associated antigen) (CD antigen CD146)	71,607
P18669	PGAM1_HUMAN	Phosphoglycerate mutase 1 (EC 5.4.2.11) (EC 5.4.2.4) (BPG-dependent PGAM 1) (Phosphoglycerate mutase isozyme B) (PGAM-B)	28,804
P08567	PLEK_HUMAN	Pleckstrin (Platelet 47 kDa protein) (p47)	40,125
Q9BQE3	TUBA1C_HUMAN	Tubulin alpha-1C chain (Alpha-tubulin 6) (Tubulin alpha-6 chain) [Cleaved into: Detyrosinated tubulin alpha-1C chain]	49,895
P07339	CATD_HUMAN	Cathepsin D (EC 3.4.23.5) [Cleaved into: Cathepsin D light chain; Cathepsin D heavy chain]	44,552

P22838	AMPL_HUMAN	Cytosol aminopeptidase (EC 3.4.11.1) (Cysteinylglycine-S-conjugate dipeptidase) (EC 3.4.13.23) (Leucine aminopeptidase 3) (LAP-3) (Leucyl aminopeptidase) (Peptidase S) (Proline aminopeptidase) (EC 3.4.11.5) (Prolyl aminopeptidase)	56,166
P42765	THIM_HUMAN	3-ketoacyl-CoA thiolase , mitochondrial (EC 2.3.1.16) (Acetyl-CoA acetyltransferase) (EC 2.3.1.9) (Acetyl-CoA acyltransferase) (Acyl-CoA hydrolase, mitochondrial) (EC 3.1.2.1) (EC 3.1.2.2) (Beta-ketothiolase) (Mitochondrial 3-oxoacyl-CoA thiolase) (T1)	41,924
O95497	VNN1_HUMAN	Pantetheinase (EC 3.5.1.92) (Pantetheine hydrolase) (Tiff66) (Vascular non-inflammatory molecule 1) (Vanin-1)	57,012
Q16706	MAZA1_HUMAN	Alpha-mannosidase 2 (EC 3.2.1.114) (Golgi alpha-mannosidase II) (AMan II) (Mannosidase alpha class 2A member 1) (Mannosyl-oligosaccharide 1,3-1,6-alpha-mannosidase)	131,141
P04070	PROC_HUMAN	Vitamin K-dependent protein C (EC 3.4.21.69) (Anticoagulant protein C) (Autoproteolytic protein C) (Blood coagulation factor XIV) [Cleaved into: Vitamin K-dependent protein C light chain; Vitamin K-dependent protein C heavy chain; Activation peptide]	52,071
AOA075B 6H9	LV469_HUMAN	Immunoglobulin lambda variable 4-69	12,773
Q99497	PARK7_HUMAN	Parkinson disease protein 7 (Maillard deglycase) (Oncogene D11) (Parkinsonism-associated deglycase) (Protein DJ-1) (DJ-1) (Protein/nucleic acid deglycase DJ-1) (EC 3.1.2.-) (EC 3.5.1.-) (EC 3.5.1.424)	19,891
P22894	MMP8_HUMAN	Neutrophil collagenase (EC 3.4.24.34) (Matrix metalloproteinase-8) (MMP-8) (PMNL collagenase) (PMNL-CL)	53,412
P21399	ACOC_HUMAN	Cytoplasmic aconitate hydratase (Aconitase) (EC 4.2.1.3) (Citrate hydro-lyase) (Ferritin repressor protein) (Iron regulatory protein 1) (IRP1) (Iron-responsive element-binding protein 1) (IRE-BP 1)	98,399
P12814	ACTN1_HUMAN	Alpha-actinin-1 (Alpha-actinin cytoskeletal isoform) (F-actin cross-linking protein) (Non-muscle alpha-actinin-1)	103,058
P40925	MDHC_HUMAN	Malate dehydrogenase , cytoplasmic (EC 1.1.1.37) (Cytosolic malate dehydrogenase) (Diodophenylpyruvate reductase) (EC 1.1.1.96)	36,426
P10720	PF4V_HUMAN	Platelet factor 4 variant (C-X-C motif chemokine 4 variant) (CXCL4L1) (PF4alt) (PF4var1) [Cleaved into: Platelet factor 4 variant (4-74); Platelet factor 4 variant (5-74); Platelet factor 4 variant (6-74)]	11,553
P14151	LYAM1_HUMAN	L-selectin (CD62 antigen-like family member 1) (LECAM1) (Lymph node homing receptor) (TQ1) (gp90-MEL) (CD antigen CD62L)	42,187
P17066	HSP76_HUMAN	Heat shock 70 kDa protein 6 (Heat shock 70 kDa protein B)	71,028
Q14126	DSG2_HUMAN	Desmoglein-2 (Cadherin family member 5) (HDGC)	122,294
P49721	PSB2_HUMAN	Proteasome subunit beta type-2 (EC 3.4.25.1) (Macropain subunit C7-i) (Multicatalytic endopeptidase complex subunit C7-i) (Proteasome component C7-i)	22,836
Q13011	ECH1_HUMAN	Delta (3,5)-Delta (2,4)-dienoyl-CoA isomerase , mitochondrial (EC 5.3.3.-)	35,816
Q9JUN8	EPCR_HUMAN	Endothelial protein C receptor (Activated protein C receptor) (APC receptor) (Endothelial cell protein C receptor) (CD antigen CD201)	26,671
P01889	HLAB_HUMAN	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain (Human leukocyte antigen B) (HLA-B)	40,46
P80404	GABT_HUMAN	4-aminobutyrate aminotransferase , mitochondrial (EC 2.6.1.19) (S)-3-amino-2-methylpropionate transaminase (EC 2.6.1.22) (GABA aminotransferase) (GABA-AT) (Gamma-amino-N-butyrate transaminase) (GABA transaminase) (GABA-T) (L-AIBAT)	56,439

AOA08411	LV949_HUMAN	Immunoglobulin lambda variable 9-49	13,024
Y8			
P01714	LV319_HUMAN	Immunoglobulin lambda variable 3-19 (Ig lambda chain V-III region SH)	12,042
O00533	NCHL1_HUMAN	Neural cell adhesion molecule L1-like protein (Close homolog of L1) (Cleaved into: Processed neural cell adhesion molecule L1-like protein)	135,071
Q9JHG3	PCYOX_HUMAN	Prenylcysteine oxidase 1 (EC 1.8.3.5) (Prenylcysteine lyase)	56,64
Q9Y5V7	LWVE1_HUMAN	Lymphatic vessel endothelial hyaluronate receptor 1 (LWVE-1) (Cell surface retention sequence-binding protein 1) (CRSBP-1) (Extracellular link domain-containing protein 1) (Hyaluronic acid receptor)	35,213
P08833	IBP1_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein 1 (IBP-1) (IGF-binding protein 1) (IGFBP-1) (Placental protein 12) (PP12)	27,904
AOA087W	KVD08_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1D-8	12,837
SZO			
Q06830	PRDX1_HUMAN	Peroxiredoxin-1 (EC 1.11.1.24) (Natural killer cell-enhancing factor A) (NKEF-A) (Proliferation-associated gene protein) (PAG) (Thioredoxin peroxidase 2) (Thioredoxin-dependent peroxidase 2) (Thioredoxin-dependent peroxidoreductase 2) (Thioredoxin-dependent peroxidoreductase 1)	22,11
O75874	IDHC_HUMAN	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic (IDH) (EC 1.1.1.42) (Cytosolic NADP-isocitrate dehydrogenase) (IDP) (NADP(+)-specific (CDH) (Oxalosuccinate decarboxylase)	46,659
Q9NQR4	NITZ_HUMAN	Omega-amidase NITZ (EC 3.5.1.3) (Nitriase homolog 2)	30,608
P08294	SODE_HUMAN	Extracellular superoxide dismutase [Cu-Zn] (EC-SOD) (EC 1.15.1.1)	25,851
PODP09	KV113_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1-13	12,569
P00966	ASSY_HUMAN	Argininosuccinate synthase (EC 6.3.4.5) (Citrulline--aspartate ligase)	46,53
P07327	ADH1A_HUMAN	Alcohol dehydrogenase 1A (EC 1.1.1.1) (Alcohol dehydrogenase subunit alpha)	39,859
P61981	I433G_HUMAN	14-3-3 protein gamma (Protein kinase C inhibitor protein 1) (KCBP-1) (Cleaved into: 14-3-3 protein gamma, N-terminally processed)	28,303
Q9NZP8	CJRL_HUMAN	Complement C1r subcomponent-like protein (C1r-LP) (C1r-like protein) (EC 3.4.21.-) (C1r-like serine protease analog protein) (CLSPa)	53,498
P49747	COMP_HUMAN	Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) (Thrombospondin-5) (TSP5)	82,86
Q9NZ08	ERAP1_HUMAN	Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 (EC 3.4.11.-) (ARTS-1) (Adipocyte-derived leucine aminopeptidase) [A-LAP] (Aminopeptidase PILS) (Puromycin-insensitive leucyl-specific aminopeptidase) (PILS-AP) (Type 1 tumor necrosis factor receptor shedding aminopeptidase regulator)	107,235
P40197	GPV_HUMAN	Platelet glycoprotein V (GPV) (Glycoprotein 5) (CD antigen CD42d)	60,959
P30043	BLVRB_HUMAN	Flavin reductase (NADPH) (FR) (EC 1.5.1.30) (Biliverdin reductase B) (BVR-B) (EC 1.3.1.24) (Biliverdin-IX beta-reductase) (Green heme-binding protein) (GHBP) (NADPH-dependent diaphorase) (NADPH:flavin reductase) (FLR)	22,119
P42126	EC1_HUMAN	Enoyl-CoA delta isomerase 1, mitochondrial (EC 5.3.3.8) (3,2-trans-enoyl-CoA isomerase) (Delta(3),Delta(2)-enoyl-CoA isomerase) (D3,D2-enoyl-CoA isomerase) (Dodecenoyl-CoA isomerase)	32,816
Q6JX88	PI16_HUMAN	Peptidase inhibitor 16 (PI-16) (Cysteine-rich secretory protein 9) (CRISP-9) (PSP94-binding protein) (CD antigen CD364)	49,471

P61457	PHS_HUMAN	Pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase (PHS) (EC 4.2.1.96) [4-alpha-hydroxy-tetrahydropterin dehydratase] (Dimerization cofactor of hepatocyte nuclear factor 1-alpha) (DCoH) (Dimerization cofactor of HNF1) (Phenylalanine hydroxylase-stimulating protein) (Pterin carbinolamine dehydratase) (PCD)	12
P91937	3HIDH_HUMAN	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase , mitochondrial (HIBADH) (EC 1.1.1.31)	35,329
P27487	DPP4_HUMAN	Dipeptidyl peptidase 4 (EC 3.4.14.5) (ADAM8) (Adenosine deaminase complexing protein 2) (ADCP-2) (Dipeptidyl peptidase IV) (DPP IV) (T-cell activation antigen CD26) (TPI103) (CD antigen CD26) [Cleaved into: Dipeptidyl peptidase 4 membrane form (Dipeptidyl peptidase IV membrane form); Dipeptidyl peptidase 4 soluble form (Dipeptidyl peptidase IV soluble form)]	88,279
P20851	C4BPB_HUMAN	C4b-binding protein beta chain	28,357
P13591	NCAM1_HUMAN	Neural cell adhesion molecule 1 (N-CAM-1) (NCAM-1) (CD antigen CD56)	94,574
P12109	CO6A1_HUMAN	Collagen alpha-1(VI) chain	108,529
P07741	APT_HUMAN	Adenine phosphoribosyltransferase (APRT) (EC 2.4.2.7)	19,608
P06744	G6PI_HUMAN	Glucose-6-phosphate isomerase (GPI) (EC 5.3.1.9) (Autocrine motility factor) (AMF) (Neuroleukin) (NLK) (Phosphoglucose isomerase) (PGI) (Phosphohexose isomerase) (PHI) (Sperm antigen 36) (SA-36)	63,147
AA00C4D H68	KV224_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 2-24	13,079
Q9UNW1	MINP1_HUMAN	Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1 (EC 3.1.3.62) [2,3-bisphosphoglycerate 3-phosphatase] [2,3-BPG phosphatase] (EC 3.1.3.80) (Inositol (1,3,4,5)-tetrakisphosphate 3-phosphatase) (Ins(1,3,4,5)P(4) 3-phosphatase)	55,051
Q95943	PLCA_HUMAN	1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase alpha (EC 2.3.1.51) [1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 1] [(1-AGP acyltransferase 1) (1-AGPAT 1)] (Lysophosphatidic acid acyltransferase alpha) (LPAAT-alpha) (Protein G15)	31,717
Q9GHR9	REEP6_HUMAN	Receptor expression-enhancing protein 6 (Polyposis locus protein 1-like 1)	23,418
Q8VWVZ8	OIT3_HUMAN	Oncoprotein-induced transcript 3 protein (Liver-specific zona pellucida domain-containing protein)	60,022
Q8WUJ48	TSK_HUMAN	Tsukushiin (Tsukushi) (E2-induced gene 4 protein) (Leucine-rich repeat-containing protein 54)	37,807
Q8NFC6	BD1L1_HUMAN	Biorientation of chromosomes in cell division protein 1-like 1	330,466
Q8GUD1	OAF_HUMAN	Out at first protein homolog (HCV NS5A-transactivated protein 13 target protein 2)	30,688
Q6ZVX7	FBX50_HUMAN	F-box only protein 50 (NCC receptor protein 1 homolog) (NCCRP-1) (Non-specific cytotoxic cell receptor protein 1 homolog)	30,847
Q3LXA3	TKFC_HUMAN	Triokinase/FMN cyclase (Bifunctional ATP-dependent dihydroxyacetone kinase/FAD-AMP lyase (cyclizing)) [Includes: ATP-dependent dihydroxyacetone kinase (DHA kinase) (EC 2.7.1.28) (EC 2.7.1.29)] (Glycerone kinase) (Triokinase) (Triose kinase); FAD-AMP lyase (cyclizing) (EC 4.6.1.15) (FAD-AMP lyase (cyclic FMN forming)) (FMN cyclase)]	58,947
Q16853	AOC3_HUMAN	Membrane primary amine oxidase (EC 1.4.3.21) (Copper amine oxidase) (HPAO) (Semicarbazide-sensitive amine oxidase) (SSAO) (Vascular adhesion protein 1) (VAP-1)	84,622

Q15084	PDIAG_HUMAN	Protein disulfide-isomerase A6 (EC 5.3.4.1) [Endoplasmic reticulum protein 5] [ER protein 5] [ERp5] (Protein disulfide isomerase P5) (Thioredoxin domain-containing protein 7)	48,121
Q15063	POSTN_HUMAN	Periostin (PN) (Osteoblast-specific factor 2) (OSF-2)	93,314
Q14697	GANAB_HUMAN	Neutral alpha-glucosidase AB (EC 3.2.1.207) (Alpha-glucosidase 2) (Glucosidase II subunit alpha)	106,874
Q14213	IL27B_HUMAN	Interleukin-27 subunit beta (IL-27 subunit beta) (IL-27B) (Epstein-Barr virus-induced gene 3 protein) (EBV-induced gene 3 protein)	25,396
Q14118	DAG1_HUMAN	Dystroglycan (Dystrophin-associated glycoprotein 1) [Cleaved into: Alpha-dystroglycan (Alpha-DG); Beta-dystroglycan (Beta-DG)]	97,441
P49913	CAMP_HUMAN	Cathelicidin antimicrobial peptide (18 kDa cationic antimicrobial protein) (CAP-18) (hCAP-18) [Cleaved into: Antibacterial peptide FALL-39 (FALL-39 peptide antibiotic); Antibacterial peptide LL-37]	19,301
P36871	PGM1_HUMAN	Phosphoglucomutase-1 (PGM 1) (EC 5.4.2.2) (Glucose phosphomutase 1)	61,449
P33908	MA1A1_HUMAN	Mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase IA (EC 3.2.1.113) (Man9)-alpha-mannosidase) (Man9-mannosidase) (Mannosidase alpha class 1A member 1) (Processing alpha-1,2-mannosidase IA) (Alpha-1,2-mannosidase IA)	72,969
P14780	MMP9_HUMAN	Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) (EC 3.4.24.35) (92 kDa type IV collagenase) (92 kDa type IV collagenase) (Gelatinase B) (GELB) [Cleaved into: 67 kDa matrix metalloproteinase-9; 82 kDa matrix metalloproteinase-9]	78,458
P13727	PRG2_HUMAN	Bone marrow proteoglycan (BMPG) (Proteoglycan 2) [Cleaved into: Eosinophil granule major basic protein (EMBP) (MBP) (Pregnancy-associated major basic protein)]	25,206
P13716	HEM2_HUMAN	Delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALADH) [EC 4.2.1.24] (Porphobilinogen synthase)	36,295
P13473	LAMP2_HUMAN	Lysosome-associated membrane glycoprotein 2 (LAMP-2) (Lysosome-associated membrane protein 2) (CD107 antigen-like family member B) (LGP-96) [CD antigen CD107b]	44,961
P12955	PEPD_HUMAN	Xaa-Pro dipeptidase (X-Pro dipeptidase) (EC 3.4.13.9) (Imidodipeptidase) (Peptidase D) (Proline dipeptidase) (Prolidase)	54,548
P10646	TFPI1_HUMAN	Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) (Extrinsic pathway inhibitor) (EPI) (Lipoprotein-associated coagulation inhibitor) (LACI)	35,015
PODP08	HVD82_HUMAN	Immunoglobulin heavy variable 4-38-2	13,016
P08195	4F2_HUMAN	4F2 cell-surface antigen heavy chain (4F2hc) (4F2 heavy chain antigen) (Lymphocyte activation antigen 4F2 large subunit) (Solute carrier family 3 member 2) [CD antigen CD98]	67,994
P07738	PMGE_HUMAN	Bisphosphoglycerate mutase (BPGM) (EC 5.4.2.4) (2,3-bisphosphoglycerate mutase, erythrocyte) (2,3-bisphosphoglycerate synthase) (EC 5.4.2.11) (2,3-diphosphoglycerate mutase) (DPGM) (BPG-dependent PGM)	30,005
P00492	HPRT_HUMAN	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT) (HGPRTase) (EC 2.4.2.8)	24,579
O95154	ARK73_HUMAN	Aflatoxin B1 aldehyde reductase member 3 (EC 1.-.-.-) (AFB1 aldehyde reductase 2) (AFB1-AR 2)	37,206
O43866	CD5L_HUMAN	CD5 antigen-like (Apoptosis inhibitor expressed by macrophages) (hAIM) (CT-2) (IgM-associated peptide) (SP-alpha)	38,088
A2VDFO	FUCM_HUMAN	Fucose mutarotase (EC 5.1.3.29)	16,765
P09960	LKHA4_HUMAN	Leukotriene A-4 hydrolase (LTA-4 hydrolase) (EC 3.3.2.6) [Leukotriene A(4) hydrolase]	69,285

AOA087W	KVD15_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 3D-15	12,534
SV6			
P04075	ALDOA_HUMAN	Fructose-bisphosphate aldolase A (EC 4.1.2.13) (Lung cancer antigen NY-LU-1) (Muscle-type aldolase)	39,42
Q96KN2	CNDP1_HUMAN	Beta-Ala-His dipeptidase (EC 3.4.13.20) (CNDP dipeptidase 1) (Carnosine dipeptidase 1) (Glutamyl carboxypeptidase-like protein 2) (Serum carnosinase)	56,706
P01701	LV151_HUMAN	Immunoglobulin lambda variable 1-51 (Ig lambda chain V-1 region BL2) (Ig lambda chain V-1 region EPS) (Ig lambda chain V-1 region NEW) (Ig lambda chain V-1 region NIG-64)	12,249
PODPS8	LYNX1_HUMAN	Ly-6/neurotoxin-like protein 1 (Endogenous prototoxin LYNX1) (Testicular tissue protein Li 112)	12,641
P48637	GSHB_HUMAN	Glutathione synthetase (GSH synthetase) (GSH-S) (EC 6.3.2.3) (Glutathione synthase)	52,385
O00151	PDL1_HUMAN	PDZ and LIM domain protein 1 (C-terminal LIM domain protein 1) (Eflin) (LIM domain protein CLP-36)	36,072
O60285	NUAK1_HUMAN	NUAK family SNF1-like kinase 1 (EC 2.7.1.1.1) (AMPK-related protein kinase 5) (ARKS) (Omphalocle kinase 1)	74,305
Q9H4A9	DPEP2_HUMAN	Dipeptidase 2 (EC 3.4.13.19)	53,365
QL6394	EXT1_HUMAN	Exostosin-1 (EC 2.4.1.224) (EC 2.4.1.225) (Glucuronosyl-N-acetylglucosaminyl-proteoglycan/N-acetylglucosaminyl-proteoglycan 4-alpha-N-acetylglucosaminyltransferase) (Multiple exostosins protein 1) (Putative tumor suppressor protein EXT1)	86,255

Proteínas identificadas en plasma y en ultrafiltrado.

Acc	ID	Protein names	Mass, kDa
P02671	FIBA_HUMAN	Fibrinogen alpha chain [Cleaved into: Fibrinopeptide A; Fibrinogen alpha chain]	94,973
P01009	A1AT_HUMAN	Alpha-1-antitrypsin (Alpha-1 protease inhibitor) (Alpha-1-antiproteinase) (Serpin A1) [Cleaved into: Short peptide from AAT (SPAAT)]	46,737
P02751	FINC_HUMAN	Fibronectin (FN) (Cold-insoluble globulin) (CIG) [Cleaved into: Anasteillin; Ugl-Y1; Ugl-Y2; Ugl-Y3]	272,32
P08603	CFAH_HUMAN	Complement factor H (H factor 1)	139,096
Q14624	ITI4_H_HUMAN	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 (ITI heavy chain H4) (ITI-HC4) (Inter-alpha-inhibitor heavy chain 4) (Inter-alpha-trypsin inhibitor family heavy chain-related protein) (IHRP) (Plasma kallikrein sensitive glycoprotein 120) (Gp120) (PK-120) [Cleaved into: 70 kDa inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4; 35 kDa inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4]	103,357
P01011	AACT_HUMAN	Alpha-1-antichymotrypsin (ACT) (Cell growth-inhibiting gene 24/25 protein) (Serpin A3) [Cleaved into: Alpha-1-antichymotrypsin His-Pro-less]	47,651
P00751	CFAB_HUMAN	Complement factor B (EC 3.4.2.1.47) (C3/C5 convertase) (Glycine-rich beta glycoprotein) (GBG) (PBF2) (Properdin factor B) [Cleaved into: Complement factor B Ba fragment; Complement factor B Bb fragment]	85,533
P02774	VTDB_HUMAN	Vitamin D-binding protein (DBP) (VDB) (Gc protein-derived macrophage activating factor) (Gc-MAF) (Gc-globulin) (Group-specific component) (Gc) (Vitamin D-binding protein-macrophage activating factor) (DBP-maf)	52,918
P00738	HPT_HUMAN	Haptoglobin (Zonulin) [Cleaved into: Haptoglobin alpha chain; Haptoglobin beta chain]	45,205
P00747	PLMN_HUMAN	Plasminogen (EC 3.4.2.1.7) [Cleaved into: Plasmin heavy chain A; Activation peptide; Angiostatin; Plasmin heavy chain A, short form; Plasmin light chain B]	90,569
P02679	FIBG_HUMAN	Fibrinogen gamma chain	51,512
P06727	APOA4_HUMAN	Apolipoprotein A-IV (Apo-AIV) (ApoA-IV) (Apolipoprotein A4)	45,372
P02790	HEMO_HUMAN	Hemopexin (Beta-1B-glycoprotein)	51,676
P0DJ19	SAAZ_HUMAN	Serum amyloid A-2 protein (SAA2) [Cleaved into: Amyloid A2 protein (AA2)]	13,527
P04217	A1BG_HUMAN	Alpha-1B-glycoprotein (Alpha-1-B glycoprotein)	54,254
P19827	ITIH1_HUMAN	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1 (ITI heavy chain H1) (ITI-HC1) (Inter-alpha-inhibitor heavy chain 1) (Inter-alpha-trypsin inhibitor complex component III) (Serum-derived hyaluronan-associated protein) (SHAP)	101,389
Q06033	ITIH3_HUMAN	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3 (ITI heavy chain H3) (ITI-HC3) (Inter-alpha-inhibitor heavy chain 3) (Serum-derived hyaluronan-associated protein) (SHAP)	99,849
P01008	ANT3_HUMAN	Antithrombin-III (A(III)) (Serpin C1)	52,602
P36955	PEDF_HUMAN	Pigment epithelium-derived factor (PEDF) (Cell proliferation-inducing gene 35 protein) (EPC-1) (Serpin F1)	46,312
P02748	CO9_HUMAN	Complement component C9 [Cleaved into: Complement component C9a; Complement component C9b]	63,173

P01042	KNG1_HUMAN	Kininogen-1 (Alpha-2-thiol proteinase inhibitor) (Fitzgerald factor) (High molecular weight kininogen) (HMWK) (Williams-Fitzgerald-Flaujeac factor) [Cleared into: Kininogen-1 heavy chain; T-kinin (Ile-Ser-Bradykinin); Bradykinin (kallidin I); Lysyl-bradykinin (Kallidin II); Kininogen-1 light chain; Low molecular weight growth-promoting factor]	71,957
P02649	APOE_HUMAN	Apolipoprotein E (Apo-E)	36,154
P02760	AMBP_HUMAN	Protein AMBP [Cleared into: Alpha-1-microglobulin (Protein HC) (Alpha-1 microglycoprotein) (Complex-forming glycoprotein heterogeneous in charge); Inter-alpha-trypsin inhibitor light chain (II-LC) (Bikunin) (EDC1) (HI-30) (Uronic-acid-rich protein); Trypsatin]	38,999
P02741	CRP_HUMAN	C-reactive protein [Cleared into: C-reactive protein (1-205)]	25,039
P06681	CO2_HUMAN	Complement C2 (EC 3.4.21.43) (C3/C5 convertase) [Cleared into: Complement C2b fragment; Complement C2a fragment]	83,268
P02749	APOH_HUMAN	Beta-2-glycoprotein 1 (APC inhibitor) (Activated protein C-binding protein) (Anticardiolipin cofactor) (Apolipoprotein H) (Apo-H) (Beta-2-glycoprotein I) (B2GPI) (Beta2) (GPI)	38,298
P25311	ZA2G_HUMAN	Zinc-alpha-2-glycoprotein (Zn-alpha-2-GP) (Zn-alpha-2-glycoprotein)	34,259
P02750	AZGL_HUMAN	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein (LRG)	38,178
P06396	GELS_HUMAN	Gelsolin (AGEL) (Actin-depolymerizing factor) (ADF) (Brevin)	85,698
P02753	RET4_HUMAN	Retinol-binding protein 4 (Plasma retinol-binding protein) (PRBP) (RBP) [Cleared into: Plasma retinol-binding protein(1-182); Plasma retinol-binding protein(1-181); Plasma retinol-binding protein(1-179); Plasma retinol-binding protein(1-176)]	23,01
P01019	ANGT_HUMAN	Angiotensinogen (Serpin A8) [Cleared into: Angiotensin-1 (Angiotensin I) (Ang I); Angiotensin-2 (Angiotensin 1-8) (Angiotensin II) (Ang II); Angiotensin-3 (Angiotensin 2-8) (Angiotensin III) (Ang III) (Des-Asp[1]-angiotensin II); Angiotensin-4 (Angiotensin 3-8) (Angiotensin IV) (Ang IV); Angiotensin 1-9; Angiotensin 1-7; Angiotensin 1-5; Angiotensin 1-4]	53,154
P68871	HBB_HUMAN	Hemoglobin subunit beta (Beta-globin) (Hemoglobin beta chain) [Cleared into: LVV-hemorphin-7; Spinorphin]	15,998
P08697	A2AP_HUMAN	Alpha-2-antiplasmin (Alpha-2-AP) (Alpha-2-plasmin inhibitor) (Alpha-2-Pl) (Serpin F2)	54,566
P02533	K1C14_HUMAN	Keratin, type I cytoskeletal 14 (Cytokeratin-14) (CK-14) (Keratin-14) (K14)	51,561
P0DJ18	SAAL_HUMAN	Serum amyloid A-1 protein (SAA) [Cleared into: Amyloid protein A (Amyloid fibril protein AA); Serum amyloid protein A(2-104); Serum amyloid protein A(3-104); Serum amyloid protein A(2-103); Serum amyloid protein A(2-102); Serum amyloid protein A(4-101)]	13,532
P04196	HRG_HUMAN	Histidine-rich glycoprotein (Histidine-proline-rich glycoprotein) (HPRG)	59,578
P69905	HBA_HUMAN	Hemoglobin subunit alpha (Alpha-globin) (Hemoglobin alpha chain)	15,258
P29622	KAIN_HUMAN	Kallistatin (Kallikrein inhibitor) (Peptidase inhibitor 4) (PI-4) (Serpins A4)	48,542
P02763	AIAG1_HUMAN	Alpha-1-acid glycoprotein 1 (AGP 1) (Orosomucoid-1) (OMD 1)	23,512
P51884	LUM_HUMAN	Lumican (Keratan sulfate proteoglycan lumican) (KSPG lumican)	38,429
P01876	IGHA1_HUMAN	Immunoglobulin heavy constant alpha 1 (Ig alpha-1 chain C region) (Ig alpha-1 chain C region BUR) (Ig alpha-1 chain C region TRG)	37,655

P02765	FETUA_HUMAN	Alpha-2-HS-glycoprotein (Alpha-2-Z-globulin) (Ba-alpha-2-glycoprotein) (Fetuin-A) [Cleaved into: Alpha-2-HS-glycoprotein chain A; Alpha-2-HS-glycoprotein chain B]	39,341
Q03591	FHR1_HUMAN	Complement factor H-related protein 1 (FHR-1) (H factor-like protein 1) (H-factor-like 1) (H36)	37,651
P07478	TRY2_HUMAN	Trypsin-2 (EC 3.4.21.4) (Anionic trypsinogen) (Serine protease 2) (Trypsin II)	26,488
P05452	TETN_HUMAN	Tetranectin (TN) (C-type lectin domain family 3 member B) (Plasminogen kringle 4-binding protein)	22,537
P08571	CD14_HUMAN	Monocyte differentiation antigen CD14 (Myeloid cell-specific leucine-rich glycoprotein) (CD antigen CD14) [Cleaved into: Monocyte differentiation antigen CD14, urinary form; Monocyte differentiation antigen CD14, membrane-bound form]	40,076
P19652	A1AG2_HUMAN	Alpha-1-acid glycoprotein 2 (AGP 2) (Orosomucoid-2) (OMD 2)	23,603
Q13790	APOF_HUMAN	Apolipoprotein F (Apo-F) (Lipid transfer inhibitor protein) (LTIP)	35,399
P02656	APOC3_HUMAN	Apolipoprotein C-III (Apo-C-III) (ApoC-III) (Apolipoprotein C3)	10,852
P08779	K1C16_HUMAN	Keratin, type I cytoskeletal 16 (Cytokeratin-16) (CK-16) (Keratin-16) (K16)	51,268
P02787	TRFE_HUMAN	Serotransferrin (Transferrin) (Beta-1 metal-binding globulin) (Siderophilin)	77,064
P00746	CFAD_HUMAN	Complement factor D (EC 3.4.21.46) (Adipsin) (C3 convertase activator) (Properdin factor D)	27,033
P02647	APOA1_HUMAN	Apolipoprotein A-I (Apo-A-I) (ApoA-I) (Apolipoprotein A1) [Cleaved into: Proapolipoprotein A-1 (ProapoA-1); Truncated apolipoprotein A-1 (Apolipoprotein A-1(1-242))]	30,778
P02788	TRFL_HUMAN	Lactotransferrin (Lactoferrin) (EC 3.4.21.-) (Growth-inhibiting protein 12) (Lalactoferrin) [Cleaved into: Lactoferricin-H (Lfcin-H); Kalliocin-1; Lactoferricin-A; Lactoferricin-B; Lactoferricin-C]	78,182
P07360	CO8G_HUMAN	Complement component C8 gamma chain	22,277
P60709	ACTB_HUMAN	Actin, cytoplasmic 1 (Beta-actin) [Cleaved into: Actin, cytoplasmic 1, N-terminally processed]	41,737
P32119	PRDX2_HUMAN	Peroxiredoxin-2 (EC 1.11.1.24) (Natural killer cell-enhancing factor B) (NKEF-B) (PRP) (Thiol-specific antioxidant protein) (TSA) (Thioredoxin peroxidase 1) (Thioredoxin-dependent peroxide reductase 1) (Thioredoxin-dependent peroxidoredoxin 2)	21,892
P00915	CAH1_HUMAN	Carbonic anhydrase 1 (EC 4.2.1.1) (Carbonate dehydratase I) (Carbonic anhydrase B) (CAB) (Carbonic anhydrase I) (CA-I)	28,87
P31025	LCN1_HUMAN	Lipocalin-1 (Tear lipocalin) (Tlc) (Tear prealbumin) (TP) (von Ebner gland protein) (VEG protein)	19,25
P07996	TSP1_HUMAN	Thrombospondin-1 (Glycoprotein G)	129,383
P12111	CO6A3_HUMAN	Collagen alpha-3(VI) chain	343,669
P18065	IBP2_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein 2 (IBP-2) (IGF-binding protein 2) (IGFBP-2)	34,814
P05109	S10A8_HUMAN	Protein S100-A8 (Calgranulin-A) (Calprotectin L1L subunit) (Cystic fibrosis antigen) (CFAG) (Leukocyte L1 complex light chain) (Migration inhibitory factor-related protein 8) (MRP-8) (p8) (S100 calcium-binding protein A8) (Urinary stone protein band A)	10,835
POC015	CO4B_HUMAN	Complement C4-B (Basic complement C4) (C3 and PZP-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 3) [Cleaved into: Complement C4 beta chain; Complement C4-B alpha chain; C4a anaphylatoxin; C4b-B; C4d-B; Complement C4 gamma chain]	192,751
P13796	PLSL_HUMAN	Plastin-2 (L-plastin) (Lymphocyte cytosolic protein 1) (LCP-1)	70,288

P30046	DOPD_HUMAN	D-dopachrome decarboxylase (EC 4.1.1.84) (D-dopachrome tautomerase) (Phenylpyruvate tautomerase II)	12,712
Q12805	FBLN3_HUMAN	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1 (Extracellular protein S1-5) (Fibulin-like protein) (Fibulin-3) (FBL-3)	54,641
P04406	G3P_HUMAN	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (EC 1.2.1.12) (Peptidyl-cysteine S-nitrosylase GAPDH) (EC 2.6.99.-)	36,053
P01033	TIMP1_HUMAN	Metalloproteinase inhibitor 1 (Erythroid-potentiating activity) (EPA) (Fibroblast collagenase inhibitor) (Collagenase inhibitor) (Tissue inhibitor of metalloproteinases 1) (TIMP-1)	23,171
P14555	PA2GA_HUMAN	Phospholipase A2 , membrane associated (EC 3.1.1.4) (GIIC sPLA2) (Group IIA phospholipase A2) (Non-pancreatic secretory phospholipase A2) (NPS-PLA2) (Phosphatidylcholine 2-acylhydrolase ZA)	16,083
P00995	ISK1_HUMAN	Serine protease inhibitor Kazal-type 1 (Pancreatic secretory trypsin inhibitor) (Tumor-associated trypsin inhibitor) (TATI)	8,507
P41222	PTGDS_HUMAN	Prostaglandin-H2 D-isomerase (EC 5.3.99.2) (Beta-trace protein) (Cerebrin-28) (Glutathione-independent PGD synthase) (Lipocalin-type prostaglandin-D synthase) (L-PGDS) (Prostaglandin-D2 synthase) (PGD2 synthase) (PGDS) (PGDS2)	21,029
P36980	FHR2_HUMAN	Complement factor H-related protein 2 (FHR-2) (DDESKS9) (H factor-like 3) (H factor-like protein 2)	30,651
Q01524	DEF6_HUMAN	Defensin-6 (Defensin, alpha 6)	10,975
P06312	KV401_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 4-1 (Ig kappa chain V-IV region B17) (Ig kappa chain V-IV region II) (Ig kappa chain V-IV region Ien) (Ig kappa chain V-IV region STH)	13,38
P24592	IBP6_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein 6 (IBP-6) (IGF-binding protein 6) (IGFBP-6)	25,322
P16035	TIMP2_HUMAN	Metalloproteinase inhibitor 2 (CSC-21K) (Tissue inhibitor of metalloproteinases 2) (TIMP-2)	24,399
P02768	ALBU_HUMAN	Albumin	69,367
P04264	K2C1_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 1 (67 kDa cytokeratin) (Cytokeratin-1) (CK-1) (Hair alpha protein) (Keratin-1) (K1) (Type-II keratin Kb1)	66,039
P35908	K2ZE_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal (Cytokeratin-2e) (CK-2e) (Epithelial keratin-2e) (Keratin-2 epidermis) (keratin-2e) (K2e) (Type-II keratin Kb2)	65,433
P13645	K1C10_HUMAN	Keratin, type I cytoskeletal 10 (Cytokeratin-10) (CK-10) (Keratin-10) (K10)	58,827
P35527	K1C9_HUMAN	Keratin, type I cytoskeletal 9 (Cytokeratin-9) (CK-9) (Keratin-9) (K9)	62,064
P01024	CO3_HUMAN	Complement C3 (C3 and P2P-like alpha-2-macroglobulin domain-containing protein 1) [Cleaved into: Complement C3 beta chain; C3-beta-c (C3bc); Complement C3 alpha chain; C3a anaphylatoxin; Acylation stimulating protein (ASP) (C3adesArg); Complement C3b alpha' chain; Complement C3c alpha' chain fragment 1; Complement C3dg fragment; Complement C3g fragment; Complement C3d fragment; Complement C3f fragment; Complement C3c alpha' chain fragment 2]	187,148
P61769	B2MG_HUMAN	Beta-2-microglobulin [Cleaved into: Beta-2-microglobulin form pl 5.3]	13,715
P36222	CH3L1_HUMAN	Chitinase-3-like protein 1 (39 kDa synovial protein) (Cartilage glycoprotein 39) (CGP-39) (GP-39) (hCGP-39) (YKL-40)	42,625
P61626	LYSC_HUMAN	Lysozyme C (EC 3.2.1.17) (1,4-beta-N-acetylmuramidase C)	16,537
P01034	CYTC_HUMAN	Cystatin-C (Cystatin-3) (Gamma-trace) (Neuroendocrine basic polypeptide) (Post-gamma-globulin)	15,799
P13647	K2C5_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 5 (58 kDa cytokeratin) (Cytokeratin-5) (CK-5) (Keratin-5) (K5) (Type-II keratin Kb5)	62,378

P98160	PGBM_HUMAN	Basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein (HSPG) (Perlecan) (PLC) [Cleaved into: Endorepellin; LG3 peptide]	468,83
Q86Y73	HORN_HUMAN	Hornerin	282,39
P03950	ANGL_HUMAN	Angiogenin (EC 3.1.27.-) (Ribonuclease 5) (RNase 5)	16,55
P80188	NGAL_HUMAN	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) (25 kDa alpha-2-microglobulin-related subunit of MMP-9) (Lipocalin-2) (Oncogene 24p3) (Siderocalin) (p25)	22,588
P34096	RNAS4_HUMAN	Ribonuclease 4 (RNase 4) (EC 3.1.27.-)	16,84
P22692	IBP4_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein 4 (IBP-4) (IGF-binding protein 4) (IGFBP-4)	27,934
P62987	RL40_HUMAN	Ubiquitin-60S ribosomal protein L40 (CEP52) (Ubiquitin A-52 residue ribosomal protein fusion product 1) [Cleaved into: Ubiquitin; 60S ribosomal protein L40 (Large ribosomal subunit protein eL40)]	14,728
P07451	CAH3_HUMAN	Carbonic anhydrase 3 (EC 4.2.1.1) (Carbonate dehydratase III) (Carbonic anhydrase III) (CA-III)	29,557
P02766	TTHY_HUMAN	Transthyretin (ATTR) (Prealbumin) (TBPA)	15,887
P39060	CO1A1_HUMAN	Collagen alpha-1(XVIII) chain [cleaved into: Endostatin; Non-collagenous domain 1 (NC1)]	178,188
Q99969	RARR2_HUMAN	Retinoic acid receptor responder protein 2 (Chemerin) (RAR-responsive protein TIG2) (Tazarotene-induced gene 2 protein)	18,618
P07148	FABPL_HUMAN	Fatty acid-binding protein, liver (Fatty acid-binding protein 1) (Liver-type fatty acid-binding protein) (L-FABP)	14,208
P59665	DEF1_HUMAN	Neutrophil defensin 1 (Defensin, alpha 1) (HNP-1) (HP-1) (HP1) [Cleaved into: HP 1-56; Neutrophil defensin 2 (HNP-2) (HP-2) (HP2)]	10,201
P01619	KV320_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 3-20 (Ig kappa chain V-III region B6) (Ig kappa chain V-III region GOL) (Ig kappa chain V-III region HAH) (Ig kappa chain V-III region HIC) (Ig kappa chain V-III region IARC/BL41) (Ig kappa chain V-III region NG9) (Ig kappa chain V-III region SIE) (Ig kappa chain V-III region TI) (Ig kappa chain V-III region WOL)	12,557
P62937	PPIA_HUMAN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A (PPIase A) (EC 5.2.1.8) (Cyclophilin A) (Cyclosporin A-binding protein) (Rotamase A) [Cleaved into: Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A, N-terminally processed]	18,012
P14923	PLAK_HUMAN	Junction plakoglobin (Catenin gamma) (Desmoplakin III) (Desmoplakin-3)	81,745
P02775	CXCL7_HUMAN	Platelet basic protein (PBP) (C-X-C motif chemokine 7) (Leukocyte-derived growth factor) (LDGF) (Macrophage-derived growth factor) (MDGF) (Small-inducible cytokine B7) [Cleaved into: Connective tissue-activating peptide III (CTAP-III) (LA-PF4) (Low-affinity platelet factor IV); TC-2; Connective tissue-activating peptide III(1-81) (CTAP-III(1-81)); Beta-thromboglobulin (Beta-TG); Neutrophil-activating peptide 2(74) (NAP-2(74)); Neutrophil-activating peptide 2(73) (NAP-2(73)); Neutrophil-activating peptide 2 (NAP-2); TC-1; Neutrophil-activating peptide 2(1-66) (NAP-2(1-66)); Neutrophil-activating peptide 2(1-63) (NAP-2(1-63))]	13,894
Q969H8	MYDGF_HUMAN	Myeloid-derived growth factor (MYDGF)	18,795
P02144	MYG_HUMAN	Myoglobin	17,184
P19013	K2C4_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 4 (Cytokeratin-4) (CK-4) (Keratin-4) (K4) (Type-II keratin Kb4)	56,144
P00441	SODC_HUMAN	Superoxide dismutase [Cu-Zn] (EC 1.15.1.1) (Superoxide dismutase 1) (hSod1)	15,936

P07998	RNAS1_HUMAN	Ribonuclease pancreatic (EC 4.6.1.18) (HP-RNase) (RIB-1) (RNase Upl-1) (Ribonuclease 1) (RNase 1) (Ribonuclease A) (RNase A)	17,644
P04080	CYTB_HUMAN	Cystatin-B (CPI-B) (Liver thiol proteinase inhibitor) (Stefin-B)	11,14
P05413	FABPH_HUMAN	Fatty acid-binding protein, heart (Fatty acid-binding protein 3) (Heart-type fatty acid-binding protein) (H-FABP) (Mammary-derived growth inhibitor) (MDGI) (Muscle fatty acid-binding protein) (M-FABP)	14,858
P35443	TSP4_HUMAN	Thrombospondin-4	105,869
P07737	PROF1_HUMAN	Profilin-1 (Epididymis tissue protein U 184a) (Profilin 1)	15,054
Q14574	DSC3_HUMAN	Desmocollin-3 (Cadherin family member 3) (Desmocollin-4) (HT-CP)	99,969
P39059	COFA1_HUMAN	Collagen alpha-1(XV) chain [Cleaved into: Restin (Endostatin-XV) (Related to endostatin) (Restin-I); Restin-2 (Restin-II); Restin-3 (Restin-III); Restin-4 (Restin-IV)]	141,72
P15924	DESP_HUMAN	Desmoplakin (DP) (250/210 kDa paraneoplastic pemphigus antigen)	331,774
Q07507	DERM_HUMAN	Dermatopontin (Tyrosine-rich acidic matrix protein) (TRAMP)	24,005
P09211	GSTP1_HUMAN	Glutathione S-transferase P (EC 2.5.1.18) (GST class-pi) (GSTP1-1)	23,356
Q06141	REG3A_HUMAN	Regenerating islet-derived protein 3-alpha (REG-3-alpha) (Hepatointestinal pancreatic protein) (HIP/PAP) (Human proislet peptide) (Pancreatitis-associated protein 1) (Regenerating islet-derived protein III-alpha) (Reg III-alpha) [Cleaved into: Regenerating islet-derived protein 3-alpha 16.5 kDa form; Regenerating islet-derived protein 3-alpha 15 kDa form]	19,395
Q04695	K1C17_HUMAN	Keratin, type I cytoskeletal 17 (39.1) (Cytokeratin-17) (CK-17) (Keratin-17) (K17)	48,106
P05451	REG1A_HUMAN	Lithostathine-1-alpha (Islet cells regeneration factor) (ICRF) (Islet of Langerhans regenerating protein) (REG) (Pancreatic stone protein) (PSP) (Pancreatic thread protein) (PTP) (Regenerating islet-derived protein 1-alpha) (REG-1-alpha) (Regenerating protein 1alpha)	18,731
Q08554	DSC1_HUMAN	Desmocollin-1 (Cadherin family member 1) (Desmosomal glycoprotein 2/3) (DG2/DG3)	99,987
P21333	FLNA_HUMAN	Filamin-A (FLN-A) (Actin-binding protein 280) (ABP-280) (Alpha-filamin) (Endothelial actin-binding protein) (Filamin-1) (Non-muscle filamin)	280,739
P01615	KVD28_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 2D-28 (Ig kappa chain V-II region FR) (Ig kappa chain V-II region GM607) (Ig kappa chain V-II region MIL) (Ig kappa chain V-II region TEW)	12,957
Q9Y279	V5IG4_HUMAN	V-set and immunoglobulin domain-containing protein 4 (Protein Z391g)	43,987
P30086	PEBP1_HUMAN	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 (PEBP-1) (HCNPPP) (Neuropolyptide h3) (Prostatic-binding protein) (Raf kinase inhibitor protein) (RKIP) [Cleaved into: Hippocampal cholinergic neurostimulating peptide (HCNP)]	21,057
P01833	PIGR_HUMAN	Polymeric immunoglobulin receptor (PIgR) (Poly-Ig receptor) (Hepatocellular carcinoma-associated protein TB6) [Cleaved into: Secretory component]	83,284
P08493	MGP_HUMAN	Matrix Gla protein (MGP) (Cell growth-inhibiting gene 36 protein)	12,353
Q15828	CYTM_HUMAN	Cystatin-M (Cystatin-6) (Cystatin-E)	16,511
Q72794	K2C1B_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 1b (Cytokeratin-1B) (CK-1B) (Keratin-77) (K77) (Type-II keratin Kb39)	61,901
O75594	PGRP1_HUMAN	Peptidoglycan recognition protein 1 (Peptidoglycan recognition protein short) (PGRP-S)	21,731

P12830	CADH1_HUMAN	Cadherin-1 (CAM 120/80) (Epithelial cadherin) (E-cadherin) (Uvomorulin) (CD antigen CD324) [Cleaved into: E-Cad/CTF1; E-Cad/CTF2; E-Cad/CTF3]	97,456
P12273	PIP_HUMAN	Prolactin-inducible protein (Gross cystic disease fluid protein 15) (GCDFF-15) (Prolactin-induced protein) (Secretory actin-binding protein) (SABP) (gp17)	16,572
Q9H299	SH3L3_HUMAN	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein 3 (SH3 domain-binding protein 1) (SH3BP-1)	10,438
P10153	RNAS2_HUMAN	Non-secretory ribonuclease (EC 4.6.1.18) (Eosinophil-derived neurotoxin) (RNase Upl-2) (Ribonuclease 2) (RNase 2) (Ribonuclease US)	18,354
P04259	K2C6B_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 6B (Cytokeratin-6B) (CK-6B) (Keratin-6B) (K6B) (Type-II keratin kb10)	60,067
P01860	IGHG3_HUMAN	Immunoglobulin heavy constant gamma 3 (HDC) (Heavy chain disease protein) (Ig gamma-3 chain C region)	41,287
P04433	KV311_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 3-11 (Ig kappa chain V-III region VG)	12,575
P62942	FKB1A_HUMAN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1A (PPIase FKBP1A) (EC 5.2.1.8) (12 kDa FK506-binding protein) (12 kDa FKBP) (FKBP-12) (Calstabin-1) (FK506-binding protein 1A) (FKBP-1A) (Immunophilin FKBP12) (Rotamase)	11,951
P30048	PRDX3_HUMAN	Thioredoxin-dependent peroxide reductase, mitochondrial (EC 1.1.1.24) (Antioxidant protein 1) (AOP-1) (HBC189) (Peroxiredoxin III) (Prx-III) (Peroxiredoxin-3) (Protein MERS homolog) (Thioredoxin-dependent peroxiredoxin 3)	27,693
P03973	SLPI_HUMAN	Antileukoprotease (ALP) (BLPI) (HUSI-1) (Mucus proteinase inhibitor) (MPI) (Protease inhibitor WAP4) (Secretory leukocyte protease inhibitor) (Seminal proteinase inhibitor) [WAP four-disulfide core domain protein 4]	14,326
Q9UBX5	FBLN5_HUMAN	Fibulin-5 (FBL-5) (Developmental arteries and neural crest EGF-like protein) (Dance) (Urine p50 protein) (UP50)	50,18
Q9NPF84	TNR12_HUMAN	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 12A (Fibroblast growth factor-inducible immediate-early response protein 14) (FGF-inducible 14) (Tweak-receptor) (TweakR) (CD antigen CD266)	13,911
P10599	THIO_HUMAN	Thioredoxin (Trx) (ATL-derived factor) (ADF) (Surface-associated sulphhydryl protein) (SASP) (allergen Hom s Trx)	11,737
O76076	CCN5_HUMAN	CCN family member 5 (Connective tissue growth factor-like protein) (CTGF-L) (Connective tissue growth factor-related protein 58) (WNT1-inducible-signaling pathway protein 2) (WISP-2)	26,825
O60844	ZG16_HUMAN	Zymogen granule membrane protein 16 (Zymogen granule protein 16) (hZG16) (Secretory lectin ZG16)	18,147
P26885	FKBP2_HUMAN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP2 (PPIase FKBP2) (EC 5.2.1.8) (13 kDa FK506-binding protein) (13 kDa FKBP) (FKBP-13) (FK506-binding protein 2) (FKBP-2) (Immunophilin FKBP13) (Rotamase)	15,649
Q9HCB6	SPON1_HUMAN	Spondin-1 (F-spondin) (Vascular smooth muscle cell growth-promoting factor)	90,973
Q02985	FHR3_HUMAN	Complement factor H-related protein 3 (FHR-3) (DOWN16) (H factor-like protein 3)	37,323
P19961	AMY2B_HUMAN	Alpha-amylase 2B (EC 3.2.1.1) (1,4-alpha-D-glucan glucanohydrolase 2B) (Carcinoid alpha-amylase)	57,71
P07108	ACBP_HUMAN	Acyl-CoA-binding protein (ACBP) (Diazepam-binding inhibitor) (DBI) (Endozepine) (EP)	10,044
P24593	IBP5_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein 5 (IBP-5) (IGF-binding protein 5) (IGFBP-5)	30,57
P01700	LV147_HUMAN	Immunoglobulin lambda variable 1-47 (Ig lambda chain V-1 region HA) (Ig lambda chain V-1 region WAH)	12,284
P14621	ACYP2_HUMAN	Acylphosphatase-2 (EC 3.6.1.7) (Acylphosphatase, muscle type isozyme) (Acylphosphate phosphohydrolase 2)	11,14
P29279	CCN2_HUMAN	CCN family member 2 (Cellular communication network factor 2) (Connective tissue growth factor) (Hypertrophic chondrocyte-specific protein 24) (Insulin-like growth factor-binding protein 8) (IBP-8) (IGF-binding protein 8) (IGFBP-8)	38,091

Q8N1N4	K2C78_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 78 (Cytokeratin-78) (CK-78) (Keratin-5b) (Keratin-78) (K78) (Type-II keratin Kb40)	56,866
P13646	K1C13_HUMAN	Keratin, type I cytoskeletal 13 (Cytokeratin-13) (CK-13) (Keratin-13) (K13)	49,588
O75112	LDB3_HUMAN	LIM domain-binding protein 3 (Protein cypher) (Z-band alternatively spliced PDZ-motif protein)	77,135
Q9UGM3	DMBT1_HUMAN	Deleted in malignant brain tumors 1 protein (Glycoprotein 340) (Gp-340) (Hensin) (Salivary agglutinin) (SAG) (Surfactant pulmonary-associated D-binding protein)	260,735
Q116627	CCL14_HUMAN	C-C motif chemokine 14 (Chemokine CC-1/CC-3) (HCC-1/HCC-3) (HCC-1(1-74)) (NCC-2) (Small-inducible cytokine A14) (Cleaved into: HCC-1(3-74); HCC-1(4-74); HCC-1(9-74))	10,678
P23284	PPIB_HUMAN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B (PPIase B) (EC 5.2.1.8) (CYP-S1) (Cyclophilin B) (Rotamase B) (S-cyclophilin) (SCYLP)	23,743
P02538	K2C6A_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 6A (Cytokeratin-6A) (CK-6A) (Cytokeratin-6D) (CK-6D) (Keratin-6A) (K6A) (Type-II keratin Kb6) (allergen Hom s 5)	60,045
P01834	IGKC_HUMAN	Immunoglobulin kappa constant (Ig kappa chain C region) (Ig kappa chain C region AG) (Ig kappa chain C region CUM) (Ig kappa chain C region EU) (Ig kappa chain C region OU) (Ig kappa chain C region ROY) (Ig kappa chain C region TI)	11,765
P04432	KVD39_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1D-39 (Ig kappa chain V-I region Daudi)	12,737
P01601	KVD16_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1D-16 (Ig kappa chain V-I region HK189)	12,73
P01624	KV315_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 3-15 (Ig kappa chain V-III region CL) (Ig kappa chain V-III region POM)	12,496
P01594	KV133_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1-33 (Ig kappa chain V-I region AU) (Ig kappa chain V-I region Ka)	12,848
P80748	LV321_HUMAN	Immunoglobulin lambda variable 3-21 (Ig lambda chain V-III region LOI) (Ig lambda chain V-V region DEL) (Ig lambda chain V-VII region MOT)	12,446
Q8WVW6	SCTM1_HUMAN	Secreted and transmembrane protein 1 (Protein K-12)	27,039
Q93091	RNAS6_HUMAN	Ribonuclease K6 (RNase K6) (EC 3.1.27.-)	17,196
Q8WVWAO	ITLN1_HUMAN	Intelectin-1 (ITLN-1) (Endothelial lectin HL-1) (Galactofuranose-binding lectin) (Intestinal lactoferrin receptor) (Omentin)	34,962
Q8N339	MT1M_HUMAN	Metallothionein-1M (MT-1M) (Metallothionein-IM) (MT-IM)	6,11
P55000	SLUR1_HUMAN	Secreted Ly-6/uPAR-related protein 1 (SLURP-1) (ARS component B) (ARS(component B)-81/5) (Anti-neoplastic urinary protein) (ANUP)	11,186
P12724	ECP_HUMAN	Eosinophil cationic protein (ECP) (EC 3.1.27.-) (Ribonuclease 3) (RNase 3)	18,385
P10451	OSTP_HUMAN	Osteopontin (Bone sialoprotein 1) (Nephropontin) (Secreted phosphoprotein 1) (SPP-1) (Urinary stone protein) (Uropontin)	35,423
P01037	CYTN_HUMAN	Cystatin-SN (Cystatin-SA-1) (Cystatin-1) (Salivary cystatin-SA-1)	16,388
O14960	LECT2_HUMAN	Leukocyte cell-derived chemotaxin-2 (LECT-2) (hLECT2)	16,39
P05089	ARG11_HUMAN	Arginase-1 (EC 3.5.3.1) (Liver-type arginase) (Type I arginase)	34,735
Q9UGM5	FETUB_HUMAN	Fetuin-B (16G2) (Fetuin-like protein IRL685) (Gugu)	42,055
O14672	ADA10_HUMAN	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10 (ADAM 10) (EC 3.4.24.81) (CDw156) (Kuzbanian protein homolog) (Mammalian disintegrin-metalloprotease) (CD antigen CD156c)	84,142

P09382	LEG1_HUMAN	Galactin-1 (Gal-1) (14 kDa laminin-binding protein) (HLBP14) (14 kDa lectin) (Beta-galactoside-binding lectin L-14-I) (Galaptin) (HBL) (HPL) (Lactose-binding lectin 1) (Lectin galactoside-binding soluble 1) (Putative MAPK-activating protein PM12) (S-Lac lectin 1)	14,716
P52758	RIDA_HUMAN	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase (EC 3.5.99.10) (14.5 kDa translational inhibitor protein) (hp14.5) (p14.5) (Heat-responsive protein 12) (Reactive intermediate imine deaminase A homolog) (Translation inhibitor L-PSP ribonuclease) (UK114 antigen homolog)	14,494
PODOY3	IGLC3_HUMAN	Immunoglobulin lambda constant 3 (Ig lambda chain C region DOT) (Ig lambda chain C region NEWM) (Ig lambda-3 chain C regions)	11,266

Proteínas identificadas en ultrafiltrado

Acc	ID	Protein names	Mass, kDa
P48668	K2C6C_HUMAN	Keratin, type II cytoskeletal 6C (Cytokeratin-6C) (CK-6C) (Cytokeratin-6E) (CK-6E) (Keratin K6h) (Keratin-6C) (K6C) (Type-II keratin Kb12)	60,025
POCG48	UBC_HUMAN	Polyubiquitin-C [Cleaved into: Ubiquitin]	77,039
Q13231	CHIT1_HUMAN	Chitinotriosidase-1 (EC 3.2.1.14) (Chitinase-1)	51,681
O15467	CCL16_HUMAN	C-C motif chemokine 16 (Chemokine CC-4) (HCC-4) (Chemokine LEC) (IL-10-inducible chemokine) (LCC-1) (Liver-expressed chemokine) (Lymphocyte and monocyte chemoattractant) (LMC) (Monotactin-1) (MTN-1) (NCC-4) (Small-inducible cytokine A16)	13,6
P04746	AMYP_HUMAN	Pancreatic alpha-amylase (PA) (EC 3.2.1.1) (1,4-alpha-D-glucan glucohydrolase)	57,707
P35754	GLRX1_HUMAN	Glutaredoxin-1 (Thioltransferase-1) (TTase-1)	11,776
P68133	ACTS_HUMAN	Actin, alpha skeletal muscle (Alpha-actin-1) [Cleaved into: Actin, alpha skeletal muscle, intermediate form]	42,051
P01857	IGHG1_HUMAN	Immunoglobulin heavy constant gamma 1 (Ig gamma-1 chain C region) (Ig gamma-1 chain C region EU) (Ig gamma-1 chain C region KOJ) (Ig gamma-1 chain C region NIE)	36,106
Q8WZ42	TITIN_HUMAN	Titin (EC 2.7.1.1.1) (Connectin) (Rhabdomyosarcoma antigen MU-RMS-40.14)	3816,03
B9A064	IGL5_HUMAN	Immunoglobulin lambda-like polypeptide 5 (G lambda-1) (Germline immunoglobulin lambda 1)	23,063
Q9BRA2	TXD17_HUMAN	Thioredoxin domain-containing protein 17 (14 kDa thioredoxin-related protein) (TRP14) (Protein 42-9-9) (Thioredoxin-like protein 5)	13,941
P05976	MYL1_HUMAN	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform (MLC1/MLC3) (MLC1F/MLC3F) (Myosin light chain alkali 1/2) (Myosin light chain A1/A2)	21,145
P26599	PTBP1_HUMAN	Polypyrimidine tract-binding protein 1 (PTB) (57 kDa RNA-binding protein PPTB-1) (Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein I) (hnRNP I)	57,221
P08590	MYL3_HUMAN	Myosin light chain 3 (Cardiac myosin light chain 1) (CMLC1) (Myosin light chain 1, slow-twitch muscle B/ventricular isoform) (MLC1SB) (Ventricular myosin alkali light chain) (Ventricular myosin light chain 1) (VLC) (Ventricular/slow twitch myosin alkali light chain) (MLC-IV/sb)	21,932
P35030	TRY3_HUMAN	Trypsin-3 (EC 3.4.21.4) (Brain trypsinogen) (Mesotrypsin) (Mesotrypsinogen) (Serine protease 3) (Serine protease 4) (Trypsin III) (Trypsin IV)	32,529

P08246	ELINE_HUMAN	Neutrophil elastase (EC 3.4.21.37) (Bone marrow serine protease) (Elastase-2) (Human leukocyte elastase) (HLE) (Medullasin) (PMN elastase)	28,518
P61916	NPC2_HUMAN	NPC intracellular cholesterol transporter 2 (Epididymal secretory protein E1) (Human epididymis-specific protein 1) (He1) (Niemann-Pick disease type C2 protein)	16,57
O75368	SH3L1_HUMAN	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein	12,774
P14854	CX6B1_HUMAN	Cytochrome c oxidase subunit 6B1 (Cytochrome c oxidase subunit Vlb isoform 1) (COX Vlb-1)	10,192
Q00872	MYPC1_HUMAN	Myosin-binding protein C, slow-type (Slow MyBP-C) (C-protein, skeletal muscle slow isoform)	128,294
P04430	KV116_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1-16 (Ig kappa chain V-1 region BAN)	12,618
P01602	KV105_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 1-5 (Ig kappa chain V-1 region CAR) (Ig kappa chain V-1 region EU) (Ig kappa chain V-1 region HK102) (Ig kappa chain V-1 region Kue)	12,782
P04054	PA21B_HUMAN	Phospholipase A2 (EC 3.1.1.4) (Group IB phospholipase A2) (Phosphatidylcholine 2-acylhydrolase 1B)	16,36
Q14019	COTL1_HUMAN	Coactosin-like protein	15,945
Q01469	FABP5_HUMAN	Fatty acid-binding protein 5 (Epidermal-type fatty acid-binding protein) (E-FABP) (Fatty acid-binding protein, epidermal) (Psoriasis-associated fatty acid-binding protein homolog) (PA-FABP)	15,164
P04118	COL_HUMAN	Collipase	11,954
Q81ZA0	K319L_HUMAN	Dyslexia-associated protein KIAA0319-like protein (Adeno-associated virus receptor) (AAVR)	115,658
Q96NZ9	PRAP1_HUMAN	Proline-rich acidic protein 1 (Epididymis tissue protein L1 178) (Uterine-specific proline-rich acidic protein)	17,208
O75347	TBCA_HUMAN	Tubulin-specific chaperone A (TCP1-chaperonin cofactor A) (Tubulin-folding cofactor A) (CFA)	12,855
Q9NS71	GKN1_HUMAN	Gastrokine-1 (18 kDa antrum mucosa protein) (AMP-18) (Protein CA11)	21,999
Q53GG5	PDL13_HUMAN	PDZ and LIM domain protein 3 (Actinin-associated LIM protein) (Alpha-actinin-2-associated LIM protein)	39,232
Q16663	CCL15_HUMAN	C-C motif chemokine 15 (Chemokine CC-2) (HCC-2) (Leukotactin-1) (LKN-1) (MIP-1 delta) (Macrophage inflammatory protein 5) (MIP-5) (Mip-2b) (NCC-3) (Small-inducible cytokine A15) [Cleaved into: CCL15(22-92); CCL15(25-92); CCL15(29-92)]	12,248
P01040	CYTA_HUMAN	Cystatin-A (Cystatin-AS) (Stefin-A) [Cleaved into: Cystatin-A, N-terminally processed]	11,006
Q14315	FLNC_HUMAN	Filamin-C (FLN-C) (FLNC) (ABP-280-like protein) (ABP-L) (Actin-binding-like protein) (Filamin-2) (Gamma-filamin)	291,022
P54296	MYOM2_HUMAN	Myomesin-2 (165 kDa connectin-associated protein) (165 kDa titin-associated protein) (M-protein) (Myomesin family member 2)	164,896
Q9Y6Z4	JAM1_HUMAN	Junctional adhesion molecule A (JAM-A) (Junctional adhesion molecule 1) (JAM-1) (Platelet F11 receptor) (Platelet adhesion molecule 1) (PAM-1) (CD antigen CD321)	32,583

Q02413	D5G1_HUMAN	Desmoglein-1 (Cadherin family member 4) (Desmosomal glycoprotein 1) (DG1) (DGI) (Pemphigus foliaceus antigen)	113,748
P55774	CCL18_HUMAN	C-C motif chemokine 18 (Alternative macrophage activation-associated CC chemokine 1) (AMAC-1) (CC chemokine PARC) (Dendritic cell chemokine 1) (DC-CK1) (Macrophage inflammatory protein 4) (MIP-4) (Pulmonary and activation-regulated chemokine) (Small-inducible cytokine A18) [Cleaved into: CCL18(1-68); CCL18(3-69); CCL18(4-69)]	9,849
P19237	TNNI1_HUMAN	Troponin I, slow skeletal muscle (Troponin I, slow-twitch isoform)	21,692
P06310	KV230_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 2-30 (Ig kappa chain V-II region RPM1 6410)	13,185
Q66P11	CTR82_HUMAN	Chymotrypsinogen B2 (EC 3.4.21.1) [Cleaved into: Chymotrypsin B2 chain A; Chymotrypsin B2 chain B; Chymotrypsin B2 chain C]	27,923
P25705	ATPA_HUMAN	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial (ATP synthase F1 subunit alpha)	59,751
P07477	TRY1_HUMAN	Trypsin-1 (EC 3.4.21.4) (Beta-trypsin) (Cationic trypsinogen) (Serine protease 1) (Trypsin 1) [Cleaved into: Alpha-trypsin chain 1; Alpha-trypsin chain 2]	26,558
Q5D862	FIL2_HUMAN	Filaggrin-2 (FLG-2) (Intermediate filament-associated and psoriasis-susceptibility protein) (Ifapsoiasin)	248,073
P19957	ELAF_HUMAN	Elaflin (Elastase-specific inhibitor) (ESI) (Peptidase inhibitor 3) (PI-3) (Protease inhibitor WAP3) (Skin-derived antileukoprotease) (SKALP) (WAP four-disulfide core domain protein 14)	12,27
A0A0C4DH25	KVD20_HUMAN	Immunoglobulin kappa variable 3D-20	12,515
P15085	CBPA1_HUMAN	Carboxypeptidase A1 (EC 3.4.17.1)	47,14
P10321	HLAC_HUMAN	HLA class I histocompatibility antigen, C alpha chain (HLA-C) (HLA-Cw) (Human leukocyte antigen C)	40,649
Q96FJ2	DYL2_HUMAN	Dynein light chain 2, cytoplasmic (8 kDa dynein light chain b) (DLC8b) (Dynein light chain LC8-type 2)	10,35
Q9Y281	COF2_HUMAN	Cofilin-2 (Cofilin, muscle isoform)	18,737
P12838	DEF4_HUMAN	Neutrophil defensin 4 (Defensin, alpha 4) (HNP-4) (HP-4)	10,504
P07355	ANXA2_HUMAN	Annexin A2 (Annexin II) (Annexin-2) (Calpactin I heavy chain) (Calpactin-1 heavy chain) (Chromobindin-8) (Lipoportin II) (Placental anticoagulant protein IV) (PAP-IV) (Protein I) (p36)	38,604
O43405	COCH_HUMAN	Cochlin (COCH-5B2)	59,483
Q9NVH2	INT7_HUMAN	Integrator complex subunit 7 (Int7)	106,834
PODPS7	SLUR2_HUMAN	Secreted Ly-6/UPAR domain-containing protein 2 (Secreted LY6/PLAUR domain-containing protein 2) (Secreted Ly-6/UPAR-related protein 2) (SLURP-2)	10,16
Q6PIW4	F1GL1_HUMAN	Fidgetin-like protein 1 (EC 3.6.4.-)	74,077

Q16270	IBP7_HUMAN	Insulin-like growth factor-binding protein 7 (IBP-7) (IGFBP-7) (IGFBP-rP1) (MAC25 protein) (PGI2-stimulating factor) (Prostacyclin-stimulating factor) (Tumor-derived adhesion factor) (TAF)	29,13
Q15843	NEDD8_HUMAN	NEDD8 (Neddylin) (Neural precursor cell expressed developmentally down-regulated protein 8) (NEDD-8) (Ubiquitin-like protein Nedd8)	9,072
P81172	HEPC_HUMAN	Hepcidin (Liver-expressed antimicrobial peptide 1) (LEAP-1) (Putative liver tumor regressor) (PLTR) [Cleaved into: Hepcidin-25 (Hepc25); Hepcidin-20 (Hepc20)]	9,408
P62837	UBD2D2_HUMAN	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 D2 (EC 2.3.2.23) (E3-independent) E2 ubiquitin-conjugating enzyme D2) (EC 2.3.2.24) (E2 ubiquitin-conjugating enzyme D2) (Ubiquitin carrier protein D2) (Ubiquitin-conjugating enzyme E2[17]KB 2) (Ubiquitin-conjugating enzyme E2-17 kDa 2) (Ubiquitin-protein ligase D2) (p53-regulated ubiquitin-conjugating enzyme 1)	16,735
P45877	PPIC_HUMAN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase C (PPIase C) (EC 5.2.1.8) (Cyclophilin C) (Rotamase C)	22,763
P35080	PROF2_HUMAN	Profilin-2 (Profilin II)	15,046
P14174	MIF_HUMAN	Macrophage migration inhibitory factor (MIF) (EC 5.3.2.1) (Glycosylation-inhibiting factor) (GIF) (L-dopachrome isomerase) (L-dopachrome tautomerase) (EC 5.3.3.12) (Phenylpyruvate tautomerase)	12,476
P07602	SAP_HUMAN	Saposin (Proactivator polypeptide) [Cleaved into: Saposin-A (Protein A); Saposin-B (Cerbroside sulfate activator) (CSAct) (Dispersin) (Sphingolipid activator protein 1) (SAP-1) (Sulfatide/GM1 activator); Saposin-C (A1 activator) (Co-beta-glucosidase) (Glucosylceramidase activator) (Sphingolipid activator protein 2) (SAP-2); Saposin-D (Component C) (Protein C)]	58,113
P07205	PGK2_HUMAN	Phosphoglycerate kinase 2 (EC 2.7.2.3) (Phosphoglycerate kinase, testis specific)	44,796
P02778	CXL10_HUMAN	C-X-C motif chemokine 10 (10 kDa interferon gamma-induced protein) (Gamma-IP10) (IP-10) (Small-inducible cytokine B10) [Cleaved into: CXCL10(1-73)]	10,881
Q14767	LTBP2_HUMAN	Latent-transforming growth factor beta-binding protein 2 (LTBP-2)	195,052
O14558	HSPB6_HUMAN	Heat shock protein beta-6 (HspB6) (Heat shock 20 kDa-like protein p20)	17,136
Q9UKX2	MYH2_HUMAN	Myosin-2 (Myosin heavy chain 2) (Myosin heavy chain 2a) (MYHC-2a) (Myosin heavy chain IIa) (MYHC-IIa) (Myosin heavy chain, skeletal muscle, adult 2)	223,044
P13987	CD59_HUMAN	CD59 glycoprotein (1F5 antigen) (20 kDa homologous restriction factor) (HRF-20) (MAC-inhibitory protein) (MAC-IP) (MEM43 antigen) (Membrane attack complex inhibition factor) (MACIF) (Membrane inhibitor of reactive lysis) (MIRL) (Protectin) (CD antigen CD59)	14,177
P01717	LV325_HUMAN	Immunoglobulin lambda variable 3-25 (Ig lambda chain V-IV region III)	12,011
P15090	FABP4_HUMAN	Fatty acid-binding protein , adipocyte (Adipocyte lipid-binding protein) (ALBP) (Adipocyte-type fatty acid-binding protein) (A-FABP) (AFABP) (Fatty acid-binding protein 4)	14,719

Q16819	MEP1A_HUMAN	Meprin A subunit alpha (EC 3.4.24.18) (Endopeptidase-2) (N-benzoyl-L-tyrosyl-L-P-amino-benzoic acid hydrolase subunit alpha) (PABA peptide hydrolase) (PPH alpha)	84,419
Q969E1	LEAP2_HUMAN	Liver-expressed antimicrobial peptide 2 (LEAP-2)	8,814
P02545	LMNA_HUMAN	Prelamin-A/C [Cleaved into: Lamin-A/C (70 kDa lamin) (Renal carcinoma antigen NY-REN-32)]	74,139
P22061	PIMT_HUMAN	Protein-L-isoaspartate(D-aspartate) O-methyltransferase (PIMT) (EC 2.1.1.77) (L-isoaspartyl protein carboxyl methyltransferase) (Protein L-isoaspartyl/D-aspartyl methyltransferase) (Protein-beta-aspartate methyltransferase)	24,636