



PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD

TESIS DOCTORAL:
**DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN EL
PACIENTE CRÍTICO: DESARROLLO DE
UN NUEVO SISTEMA DE CLASIFICACIÓN**

Presentada por **D. Miguel Javier Ugalde Azpiazu** para optar al grado de Doctor por la Universidad de Valladolid

Dirigida por:

Dr. Alberto Caballero García

Dr. Eduardo Tamayo Gómez

Dra. Rocío López Herrero

Agradecimientos

En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a mi mentor Dr. Alberto Caballero, por tu motivación y apoyo paciente e incondicional. Al Dr. Eduardo Tamayo y la Dra. Rocío López, por la oportunidad de trabajo conjunto brindada, vuestra dedicación y enseñanza que han hecho posible este trabajo.

Al equipo de Medicina Intensiva del Hospital Santa Bárbara, a todos y cada uno de vosotros que me ayudáis cada día a ser mejor médico. A todos los colaboradores del grupo BioCritic, por vuestra colaboración en la recogida y procesamiento de muestras, así como el análisis de datos.

Gracias al mi ahijado Jaime, por tu sonrisa risueña que solo muestra bondad.

Gracias a mis amigos, sois pilares silenciosos de mi camino, y bastón en los momentos de oscuridad. Porque no hay amor más grande que dar la vida por los amigos.

A toda mi familia, si a alguien debo el estar escribiendo estas líneas es a aquellos que me quieren al ser mi refugio y donde no dejo de ser yo.

A mi padre, aita, el primer Dr. Ugalde, gracias por ser mi modelo de vida, ejemplo de compromiso e integridad, tanto personal como profesional.

Gracias a mi madre, ama, por todos tus desvelos para hacer de nosotros personas íntegras, responsables y comprometidas con el bien, siempre pendiente hasta en los más mínimos detalles.

A mis hermanos, Iñaki y Ainhoa, gracias por vuestro apoyo sin dubitaciones y por no dejar de creer en mí, incluso cuando yo dudaba. Sois parte esencial de este logro.

A Cristina, gracias por tu 'sí' incondicional, por ser refugio en la tristeza y aliento en la incertidumbre. Porque en los momentos más difíciles, tu presencia me da la fuerza. Porque contigo dejo de ser solo yo para ser nosotros.

Gracias a los que ya no están, sé que me siguen cuidando todos los días.

A todos los pacientes que han formado parte de este estudio, sin vosotros esta investigación no habría sido posible. Gracias por brindarme el privilegio de aprender a través de vuestro sufrimiento, confiamos en que todo este esfuerzo redunde en una mejor atención sanitaria.

Por último, gracias a Dios, porque todo es gracias a Ti.

“El que no vive para servir no sirve para vivir”

Santa Teresa de Calcuta

Resumen

Introducción

La sepsis constituye uno de los mayores desafíos clínicos de la medicina moderna, no solo por su elevada morbilidad, sino por las dificultades inherentes a su diagnóstico precoz y tratamiento oportuno. Este trabajo de tesis se adentra en el estudio integral de los mecanismos fisiopatológicos que la caracterizan, con especial atención a la disfunción endotelial y la respuesta inmune desregulada.

Las escalas y biomarcadores actuales presentan una baja especificidad. Existen pocos estudios que evalúen de forma objetiva el papel del endotelio y un potencial enfoque de clasificación de los pacientes. La clasificación de los pacientes en función de la presencia de disfunción endotelial permitiría realizar un diagnóstico y tratamiento dirigido a la alteración observada.

Objetivos

Presentamos doble objetivo principal, y es que inicialmente se estudiará en la bibliografía el papel de sFLT-1 en pacientes con patología crítica ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos. El otro gran objetivo principal será la búsqueda de biomarcadores que indiquen la presencia de disfunción endotelial en el paciente crítico. Como objetivos secundarios, se propone caracterizar la disfunción endotelial mediante biomarcadores validados (como PCR y procalcitonina) y escalas clínicas reconocidas (SOFA y APACHE II), para correlacionarla con la gravedad y mortalidad del cuadro clínico.

Material y métodos

El presente trabajo se estructura en dos ejes metodológicos complementarios. El primero consistió en una investigación compendio-comparativa con búsqueda en PubMed entre enero de 2010 y marzo de 2022 centrada en el biomarcador sFLT-1 en el contexto de la sepsis y el shock séptico. El segundo componente fue un estudio de campo multicéntrico, observacional y prospectivo durante tres años. Se incluyeron 187 pacientes adultos agrupados en función de su condición clínica (sepsis, shock séptico, shock no séptico, SRIS, control). Se utilizó un enfoque de inteligencia artificial para identificar subgrupos de pacientes, determinando dos clústeres diferenciados según perfiles clínicos y bioquímicos.

Resultados

Se identifica la capacidad de sFLT-1 como potencialmente útil en la diferenciación entre tipos de shock, así como su correlación con mortalidad, gravedad (APACHE-II) e inflamación sistémica (IL-6), incluso en el contexto de infección por SARS-CoV-2.

La pertenencia al grupo con disfunción endotelial se asoció con mayores elevaciones de reactantes de fase aguda (PCR, PCT) y complicaciones específicas como fracaso renal, ventilación mecánica o delirium. Al analizar los grupos se muestra la presencia de alteración microvascular como peor pronóstico, mayor necesidad de soporte intensivo y mayor disfunción multiorgánica.

Conclusiones

El uso de biomarcadores de disfunción endotelial permite establecer una nueva clasificación en los pacientes con sepsis. Los cambios detectados a nivel vascular han permitido relacionarse con mayores alteraciones analíticas, tasa de complicaciones y mayor mortalidad que se proponen como nueva herramienta para la clasificación de los pacientes críticos.

Abstract

Background

Sepsis is one of the greatest clinical challenges in modern medicine, not only because of its high morbidity and mortality, but also because of the difficulties inherent in its early diagnosis and timely treatment. This thesis work delves into the comprehensive study of the pathophysiological mechanisms that characterize it, with special attention to endothelial dysfunction and the dysregulated immune response.

Current scales and biomarkers have low specificity. There are few studies that objectively assess the role of the endothelium and a potential patient classification approach. The classification of patients according to the presence of endothelial dysfunction would allow a diagnosis and treatment aimed at the observed alteration to be made.

Aim

This work has a double main objective, first, the role of sFLT-1 in patients with critical pathology admitted to the Intensive Care Unit will be studied in the literature. The other main objective will be the search for biomarkers that indicate the presence of endothelial dysfunction in the critically ill patient. As secondary objectives, it is proposed to characterize endothelial dysfunction using validated biomarkers (such as CRP and procalcitonin) and recognized clinical scales (SOFA and APACHE II), to correlate it with the severity and mortality of the clinical picture.

Material and methods

The first consisted of compendium-comparative research with a search in PubMed between January 2010 and March 2022 focused on the sFLT-1 biomarker in the context of sepsis and septic shock. The second component was a multicentre, observational, and prospective field study over three years. A total of 187 adult patients were included, grouped according to their clinical condition (sepsis, septic shock, nonseptic shock, SIRS, control). An artificial intelligence approach was used to identify subgroups of patients, determining two clusters differentiated according to clinical and biochemical profiles.

Results

The ability of sFLT-1 is identified as potentially useful in differentiating between types of shock, as well as its correlation with mortality, severity (APACHE-II) and systemic inflammation (IL-6), even in the context of SARS-CoV-2 infection.

Belonging to the endothelial dysfunction group was associated with higher elevations of acute phase reactants (CRP, PCT) and specific complications such as renal failure, mechanical ventilation, or delirium. When analysing the groups, the presence of microvascular alteration was shown as a worse prognosis, greater need for intensive support, and greater multiorgan dysfunction.

Conclusions

The use of biomarkers of endothelial dysfunction allows us to establish a new classification in patients with sepsis. The changes detected at the vascular level have made it possible to relate to greater laboratory alterations, complication rate and higher mortality that are proposed as a new tool for the classification of critically ill patients.

Índice

1	Introducción	19
1.1	Antecedentes históricos	21
1.2	Evolución del concepto de la sepsis	24
1.3	Impacto epidemiológico	26
1.4	Fisiopatología	28
1.5	Diagnóstico.....	36
1.6	Tratamiento	47
2	Hipótesis	53
3	Objetivos.....	57
3.1	Objetivo primario	59
3.2	Objetivo secundario	59
4	Material y métodos	61
4.1	Investigación compendio-comparativa acerca de sFLT-1	63
4.2	Estudio de campo.....	66
5	Resultados	71
5.1	Resultados como fruto del trabajo de compendio de investigación.....	73
5.2	Resultados del estudio clínico.....	91
6	Discusión	101
6.1	Discusión relativa a la investigación compendio-comparativa.....	103
6.2	Discusión relativa al ensayo clínico	106
6.3	Limitaciones del estudio	110

7	Conclusiones	113
8	Bibliografía	117
10	Anexos	137

Glosario de abreviaturas

a. C	Antes de Cristo
ADM	Adrenomedulina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
APC	Células presentadores de antígeno
APS III	Acute Physiology Score III
Ca O₂	Contenido arterial oxígeno
CCL	Ligando de quimiocina
CD	Antígeno Clúster of differentiation
CDS	Charlson Comorbidity Score
CEIC	Comisión de Ética en Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid
CEIm	Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos área de Salud de Burgos y Soria
CID	Coagulación intravascular diseminada
Cv O₂	Contenido venoso oxígeno
DO₂	Suministro oxígeno

EROS	Especies reactivas de oxígeno
ESICM	European Society of Intensive Care Medicine
GC	Gasto cardíaco
GRS	Gerencia regional de salud
Hb	Hemoglobina
HCO3	Bicarbonato
IA	Inteligencia artificial
IC	Índice cardíaco
ICAM-1	Circulating intercellular adhesion molecule-1
IFN	Interferón
IL	Interleuquina
IMC	Índice de masa corporal
INR	International Normalized Ratio
K	Potasio
LODS	Logistic Organ Dysfunction System
LPS	Ligandos de lipopolisacáridos

MDSC	Células supresoras derivadas de mieloides
MODS	Multiple Organ Dysfunction Score
MP	Micropartículas
Na	Sodio
NF-κB	factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NOX	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato hidrógeno oxidasa
OASIS	Puntuación de gravedad aguda de la enfermedad de Oxford
PaCO2	Presión parcial CO
PAM	Presión arterial media
PaO2/FiO2	Presión Parcial Arterial de Oxígeno/Fracción Inspirada de Oxígeno
PCR	Proteína C reactiva
PCR	Técnica de reacción en cadena de la polimerasa
PCT	Procalcitonina
PD1	Receptor inhibidor de la proteína de muerte programada 1
PDL1	Ligando 1 de muerte programada de la proteína de las células T
PIGF	factor de crecimiento placentario

PRR	Receptores de reconocimiento de patrones
qSOFA	Quick Sequential Organ Failure Assessment Score
RDW-SD	Amplitud de distribución eritrocitaria
SAPS	Simplified Acute Physiologic Score
Sat art O₂	Saturación arterial oxígeno
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SDC1	Syndecan-1
sFlt-1	Tirosincinasa 1 soluble similar a fms
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SNP	Polimorfismos de un solo nucleótido
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment Score
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SvO₂	Saturación Venosa Central
TAM	Presión arterial media
TNF	Factor de necrosis tumoral
Tregs	Células T reguladoras

UCI Unidad de Cuidados Intensivos

uPA Uroquinasa

VCAM-1 Circulating intracellular adhesion molecule-1

VO2 Consumo oxígeno

Índice de figuras

- Figura 1** Hipócrates
- Figura 2** Avicena: Canon de la Medicina
- Figura 3** Philipp Semmelweis
- Figura 4** Luis Pasteur
- Figura 5** Alexander Fleming
- Figura 6** Evolución concepto de sepsis.
- Figura 7** Ejemplos de vías inflamatorias dentro de las células endoteliales durante la sepsis.
- Figura 8** Fórmula saturación venosa central
- Figura 9** Resumen de la fisiopatología de la sepsis.
- Figura 10** Diagrama propuesto en base qSOFA evaluado por enfermería.
- Figura 11** Área bajo la curva para la predicción de la gravedad.
- Figura 12** Diagrama de flujo del proceso de selección de estudios
- Figura 13** Diagramas de caja que representan las concentraciones seriadas de sFlt-1 y VEGF-A en pacientes con neutropenia febril con sepsis no complicada con choque séptico al inicio de la fiebre y 48 horas después

- Figura 14** Niveles de biomarcadores en pacientes con y sin diabetes y con diferentes grados de gravedad de sepsis.
- Figura 15** Correlación de los biomarcadores de activación de las células endoteliales con la puntuación SOFA y la IL-6
- Figura 16** Estimaciones de Kaplan-Meier de desarrollo de shock séptico en pacientes con neutropenia febril según la relación Ang-2/Ang-1
- Figura 17** AUC comparando clínica, biomarcadores y uso combinado de ambas en relación con la predicción de infección
- Figure 18** Estimaciones de Kaplan-Meier de la supervivencia a los 28 días en pacientes con neutropenia febril según la relación Ang-2/Ang-1
- Figura 19** Predicción de mortalidad según niveles de sFLT-1
- Figura 20** Niveles séricos de CA 15,3 en pacientes infectados por SARS-CoV-2
- Figura 21** Área bajo la curva ROC de la razón sFlt-1/ANG-II para la predicción de neumonía grave por COVID-19.
- Figura 22** Relación entre sFlt-1 y ANG-II
- Figura 23** Áreas ROC de relación de niveles de sFLT-1 en: predicción de neumonía grave, ingreso en UCI, sepsis viral y muerte materna.
- Figura 24** Representación tridimensional de los pacientes agrupados según los valores de los tres biomarcadores.
- Figura 25** Diagramas de caja de cada biomarcador estratificados por clúster.

Figura 26 Diagramas de dispersión comparando la distribución de los biomarcadores Angpt-1, Angpt-2 y VEGFR-1 en cada conglomerado por pares.

Figura 27 Análisis de colinealidad de las variables incluidas en el análisis multivariante

Figura 28 Análisis de regresión logística multivariante para evaluar la asociación de subgrupos de pacientes con factores clínicos.

Índice de tablas

Tabla 1	Criterios diagnósticos SEPSIS – 1
Tabla 2	Criterios diagnósticos SEPSIS – 2
Tabla 3	Puntuación SOFA.
Tabla 4	Puntuación qSOFA.
Tabla 5	Puntuación APACHE – II.
Tabla 6	Puntuación SAPS II.
Tabla 7	Puntuación MODS.
Tabla 8	Puntuación Índice de comorbilidad de Charlson.
Tabla 9	Comparación de modelos de puntuación entre infección adquirida en la UCI y ninguna infección con sepsis adquirida en la UCI.
Tabla 10	Relación lineal no ajustada para mediciones NIRS predicción de biomarcadores de activación endotelial.
Tabla 11	Regresión logística multivariante para la predicción de la sepsis según variables clínicas
Tabla 12	Regresión logística multivariante para la predicción de la sepsis según biomarcadores clínicos
Tabla 13	Regresión logística multivariante para la predicción de la sepsis mediante el uso combinado de variables clínicas y biomarcadores

Tabla 14	Área bajo la curva en la que se predice la mortalidad hospitalaria ajustada a comorbilidades
Tabla 15	sFLT-1 como biomarcador de mortalidad
Tabla 16	sFLT-1 como biomarcador diagnóstico y de gravedad en neumonía por SARS-CoV-2
Tabla 17	Características basales del paciente
Tabla 18	Valores de Angpt-1, Angpt-2 y VEGFR-1 para los dos subgrupos de pacientes.
Tabla 19	Características demográficas y clínicas de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1.
Tabla 20	Características quirúrgicas de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1
Tabla 21	Características analíticas, estancia y predicción de mortalidad de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1.
Tabla 22	Complicaciones postoperatorias de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1
Tabla 23	Regresión logística univariante ajustada por edad y sexo con Clúster 0 vs. Clúster 1 como variable de resultado
Tabla 24	Regresión logística multivariable ajustada por edad y sexo con Clúster 0 vs. Clúster 1 como variable de resultado.

1 Introducción

1.1 Antecedentes históricos

A lo largo de la historia, las grandes epidemias han sido interpretadas de formas diversas desde la atribución a enfoques mágicos hasta a castigos divinos en la mayoría de los casos (1). La sepsis es uno de los síndromes más antiguos de la medicina. Hipócrates, médico de la Antigua Grecia que ejerció durante el siglo V a. C, ya afirmó que la sepsis (*σήψις*) era el proceso por el cual la carne se pudre (2).

La primera mención documentada de la sepsis se remonta aproximadamente al año 1600 a.C. en Luxor, Egipto. En él se hace referencia a 48 casos de lesiones traumáticas infectadas: heridas, fracturas y luxaciones en diversas partes del cuerpo, explicando sus signos y síntomas y así como los primeros tratamientos (limpieza y vendaje de las heridas), su seguimiento, pronóstico y tratamiento posterior (3).

El médico griego Hipócrates (460–377 a.C.) desarrolló la teoría de los cuatro humores cuyo equilibrio se denominaba *eucrasia*, siendo considerado el estado de plena salud. Desde tiempos muy antiguos, los griegos señalaban los peligros de la pérdida de continuidad de la piel y posterior diseminación local informando del riesgo de la diseminación sistémica “*Una lesión local, calentada por el aflujo del humor, hace que todo el cuerpo se torne febril. Uno puede morir de esto, especialmente en los días impares*”. En cuanto a las heridas internas justificaban la formación de colecciones internas en los cuadro febriles por el estancamiento de la sangre en el lugar lesionado (4).

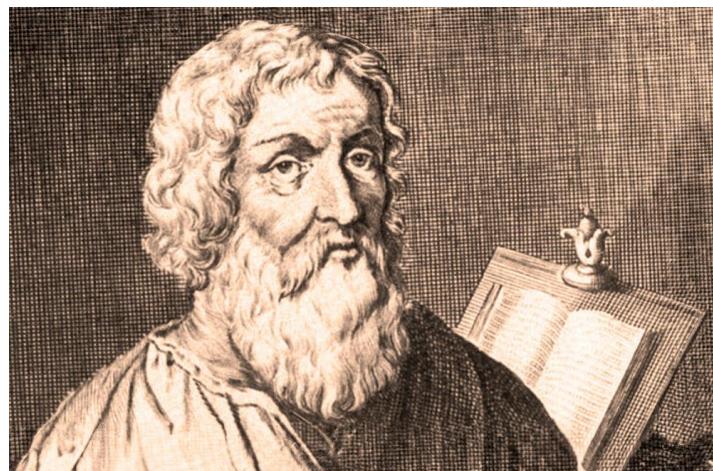


Figura 1 Hipócrates (2)

El Imperio Romano siguió con el legado griego en la línea de nuevos productos antisépticos. Entre sus autores distinguidos se destaca Galeno. El médico-cirujano reforzó importancia de la curación supurativa e introdujo el concepto de “*Pus bonum et laudabile*”. Dicho concepto se basaba en la

formación del pus y curación de las heridas por segunda intención. Este planteamiento estimuló el uso indiscriminado del cauterio durante toda la Edad Media, así como de ungüentos de toda clase (5).

Los árabes fueron los continuadores de esta ciencia de la mano de Hunayn, Avicena, Rhazes y Averroes quienes recopilaron el saber médico anterior enfatizando en la importancia de la supuración en la curación de las heridas. Sin embargo, la técnica quirúrgica no evolucionó a la misma velocidad por el carácter sagrado del cuerpo convirtiendo en inaceptable cualquier técnica sobre el mismo (6).

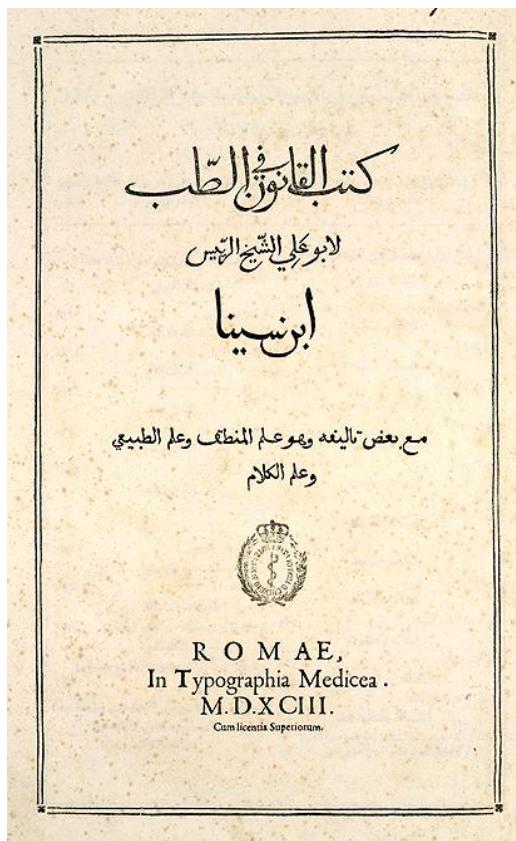


Figura 2 Avicena: *Canon de la Medicina* (6)

El concepto de contagio fue descrito por primera vez en el s. XVI por Girolamo Fracastoro. En este tratado, Fracastoro propuso que las enfermedades epidémicas eran transmitidas por "*seminaria contagionis*", que podían propagarse por contacto directo, por fómites, o incluso a distancia, anticipando de forma asombrosa algunos principios de la microbiología moderna (7).

Más adelante, en el siglo XVIII, el médico escocés Sir John Pringle postuló el contagio de infecciones en ambientes cerrados dando lugar al concepto de infección nosocomial por

hacinamiento en hospitales y cuarteles. Sus planteamientos sostuvieron el papel de la ventilación, limpieza, y separación de pacientes infectados (8).

No sería hasta el siglo XIX cuando Philipp Semmelweis observaría que las mujeres que daban a luz en la sala de partos de estudiantes de medicina tenían una tasa de mortalidad mucho mayor que las que daban a luz en la sala de partos de comadronas. La diferencia entre ambas radicaba en la infección por bacterias por la falta de lavado de manos del primero de los grupos (9).

En ese mismo siglo sería la eclosión de grandes investigaciones: Luis Pasteur, a través de sus estudios sobre fermentación y generación espontánea, sentó las bases de la teoría germinal (8). Robert Koch complementó este marco conceptual al vincular un microorganismo con una enfermedad específica (10). El aislamiento y clasificación de bacterias como *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Escherichia coli* permitió una identificación etiológica clara de los cuadros sépticos. Esto fue el inicio del desarrollo de técnicas de cultivo, tinción y diagnóstico microbiológico (11).

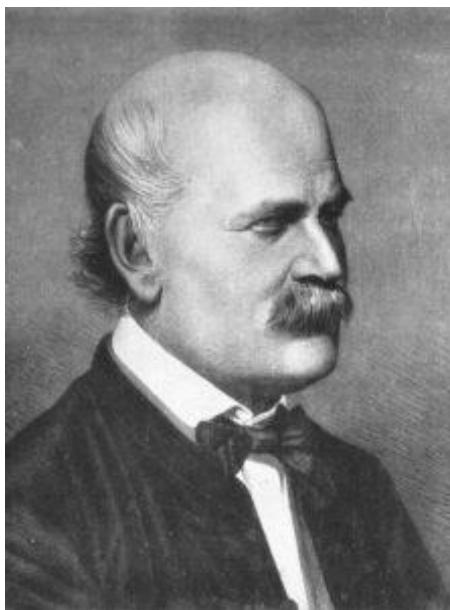


Figura 3 Philipp Semmelweis (9).



Figura 4 Luis Pasteur (8)

A la vez que las teorías de los microorganismos tomaban más peso, científicos como Rudolf Virchow propusieron el concepto de inflamación como fenómeno celular (11), y Theodor Billroth describió la sepsis como un proceso resultante de la diseminación de microorganismos (12). Hasta finales del s. XIX sólo se había desarrollado la farmacopea de los tratamientos que evitaban el

desarrollo de la sepsis (antisépticos y hemostáticos). Sin embargo, en el s. XX se desarrolla el uso de sueros antitoxina y antibióticos como la penicilina de la mano de Alexander Fleming (13).

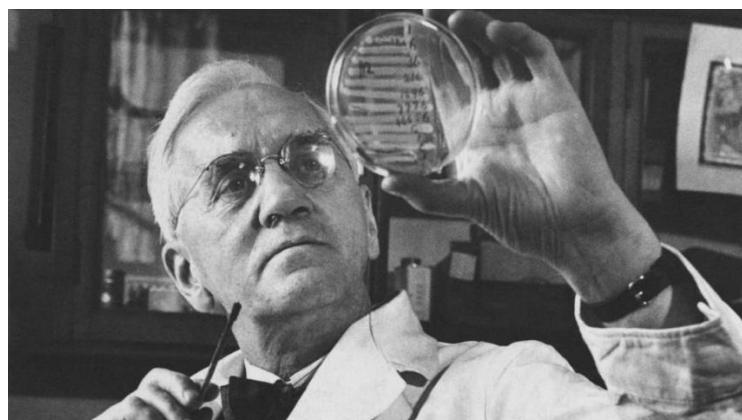


Figura 5 Alexander Fleming (13)

El impacto de la sepsis en contextos bélicos, junto con los avances en el conocimiento de las patologías infecciosas en el ámbito civil, constituyó un elemento clave en el desarrollo y la posterior instauración de las Unidades de Cuidados Intensivos o UCI's a finales de la década de 1950. Desde entonces, se han logrado importantes avances tecnológicos y una mayor comprensión de la fisiopatología y patogénesis de las enfermedades que afectan a los pacientes críticos, así como el desarrollo del soporte hemodinámico y técnicas de remplazo orgánico (14).

1.2 Evolución del concepto de la sepsis

La definición de sepsis ha evolucionado en las últimas décadas, destacando tres momentos clave en su desarrollo. El primero de ellos tuvo lugar en 1991, cuando el American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine (SCCM) estableció los criterios conocidos como SEPSIS – 1 (Tabla 1). Esta definición surgió a través de una declaración de consenso, motivada por la necesidad de estandarizar un concepto que hasta entonces carecía de una formulación clara y uniforme en la práctica clínica (15).

Bacteriemia	Presencia de bacterias en sangre
Sepsis	Respuesta sistémica a la infección con fallo en dos órganos diana
Sepsis grave	Sepsis asociada a disfunción orgánica
Shock séptico	Hipotensión inducida por la sepsis
SIRS	Estado de inflamación generalizada puede ocurrir en pacientes múltiples trastornos

Tabla 1 Criterios diagnósticos SEPSIS – 1. SCCM 1991

En el año 2001 se reestablecieron los criterios SEPSIS – 2 secundados por SSCM, la European Society of Intensive Care Medicine (ESCIM) la American College of Chest Physicians, la American Thoracic Society y la Surgical Infection Society manteniendo las definiciones de sepsis, sepsis severa y shock séptico (Tabla 2). Este nuevo enfoque de la sepsis aumentó los criterios diagnósticos para presentar una mayor sensibilidad ante la elevada gravedad de esta patología (16).

Infección documentada o sospechada y uno de los siguientes parámetros	
Parámetros generales	<ul style="list-style-type: none"> - Fiebre o hipotermia - Taquicardia o taquipnea - Alteración del estado mental - Balance de fluidos positivo - Hiperglicemia
Parámetros inflamatorios	<ul style="list-style-type: none"> - Leucocitosis o leucopenia - Glóbulos blancos con desviación a la izquierda - Elevación de PCR o PCT
Parámetros hemodinámicos	<ul style="list-style-type: none"> - Hipotensión arterial - Aumento de saturación venosa mixta de oxígeno - Aumento de índice cardíaco
Parámetros de disfunción orgánica	<ul style="list-style-type: none"> - Hipoxemia arterial - Oliguria o aumento de creatinina - Coagulopatía o trombocitopenia - Hiperbilirrubinemia
Parámetros de perfusión tisular	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperlactatemia - Disminución del llenado capilar o moteado

Tabla 2 Criterios diagnósticos SEPSIS – 2. SCCM 2001

En 2014 se reformularon las categorías por parte de la ESICM y SCCM dando lugar al consenso SEPSIS – 3. Esto se llevó a cabo por la baja especificidad de los criterios de Sepsis – 2 y es que provocaban que gran parte de los ingresados en la UCI se definieran como sépticos. Además, no tenía en cuenta la posibilidad de colonización en estados de respuesta inflamatoria sistémica (17).

Como novedades, el concepto de SIRS fue retirado debido al enfoque excesivo en la inflamación. No obstante, dicha eliminación podría ser potencialmente peligrosa ya que se ha demostrado que tener dos o más criterios SIRS es un predictor independiente de infección, duración de la estancia hospitalaria y resultado en pacientes traumatizados, en pacientes con hemorragia subaracnoidea o hemorragia gastrointestinal. Además, se ha demostrado que, a medida que los pacientes desarrollan más criterios de SIRS, aumenta la incidencia de sepsis (18). Por lo que dicha eliminación supone un riesgo al perder el perfil de la inflamación como uno de los pilares básicos de la sepsis. Esta modificación en las nuevas guías de práctica clínica presenta el riesgo de no poder abordar los aspectos clínicos emergentes, como son los cada vez más abundantes conocimientos moleculares, comprometiendo la precisión diagnóstica y la adecuación terapéutica.

en escenarios específicos. Por último, el concepto de sepsis grave fue eliminado al ser redundante con el concepto de sepsis per se, ya que la disfunción de órganos potencialmente mortales es consistente con la opinión de que los defectos celulares subyacen a anomalías fisiológicas y bioquímicas dentro de sistemas de órganos específicos (19).

Finalmente, la sepsis pasó a definirse como una **disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección**. Esta nueva definición enfatiza la primacía de la respuesta no homeostática del huésped a la infección, la letalidad potencial que excede considerablemente la de una infección simple y la necesidad de un reconocimiento urgente (19).

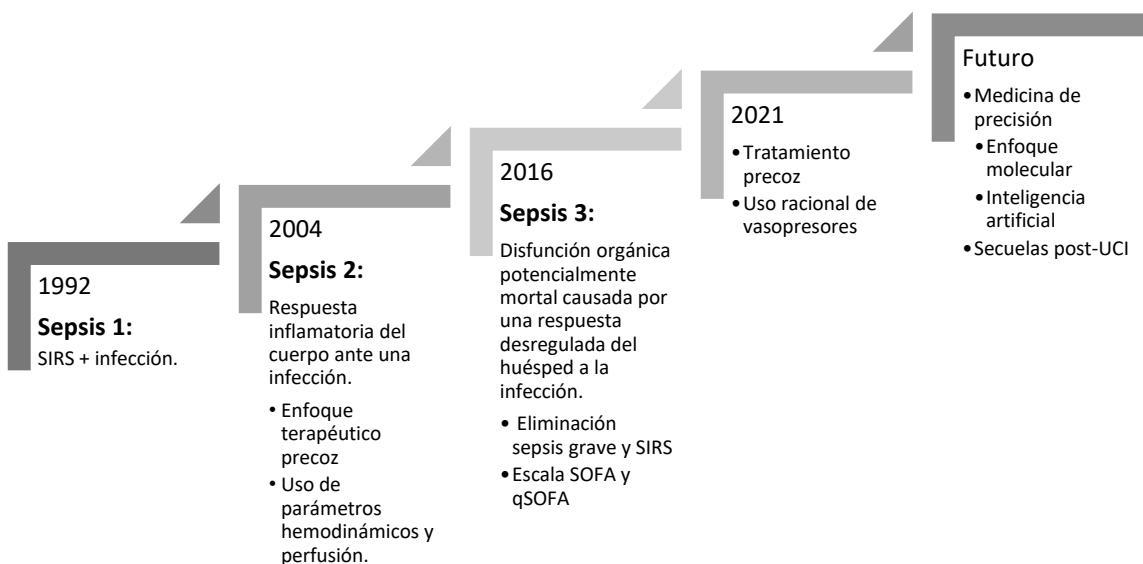


Figura 6 Evolución concepto de sepsis. Elaboración propia

1.3 Impacto epidemiológico

La sepsis representa un problema sanitario de primer orden a nivel mundial. En cuanto a su epidemiología no es sencillo definirla de forma precisa debido a definiciones diagnósticas cambiantes, variabilidad de estudios entre países altos frente a bajos ingresos y subpoblaciones de alto riesgo, entre otros factores (20).

La sepsis no forma parte de la taxonomía de la clasificación por Carga Global de Enfermedades (salvo la sepsis neonatal) sino que las infecciones se informan por separado. Por esta razón la clasificación actual no es un reflejo de la realidad (21). Los infartos agudos de miocardio y los accidentes cerebrovasculares presentan un puesto más alto en las clasificaciones según la Organización Mundial de la Salud (22). No obstante, la tasa de hospitalización con sepsis grave

entre los servicios de urgencias presenta una tasa de 3,3 por cada 100 visitas, mientras que el infarto y el ictus presentan 2,3 y 2,2 respectivamente (23).

Los últimos datos publicados cifran una incidencia anual global entre 276 y 678 casos por cada 100.000 personas estimándose una letalidad entre el 22,5 y el 26,7 % (24). Dichos datos representan el 20% de las muertes mundiales. En los últimos años se ha visto un descenso marcado en cuanto a la incidencia estandarizada, ya que ésta se redujo en un 37% y la mortalidad disminuyó en un 52,8% (25). En cuanto a la distribución mundial, la tasa es aparentemente mayor en los países desarrollados lo cual es más probable que sea por falta de registros en los países en vías de desarrollo, por lo que los estudios de incidencia estén también infraestimados (23).

En Estados Unidos, se estiman más de 970.000 casos de sepsis anualmente. Dichos datos equivalen a alrededor de 3 casos por 1.000 habitantes con una consecuencia de alrededor de 2,2 casos por cada 100 altas hospitalarias, de los cuales la mitad requirió ingreso en una unidad de cuidados intensivos (26). En España, la incidencia de sepsis grave y de shock séptico es de 104 y de 31 casos por cada 100.000 habitantes y año, respectivamente (27).

La mortalidad global de los pacientes va del 36,9% en sepsis al 55,9% en shock séptico (28). Se ha observado que entre el 54% y el 65% de los pacientes que desarrollan sepsis presentan al menos una condición médica crónica concomitante, lo que supone un factor de riesgo adicional en la evolución de los pacientes(29). Jianqiang Ding et al. describieron los principales factores de riesgo asociados con mortalidad: VIH, cáncer, cirrosis, insuficiencia cardiaca, diabetes mellitus y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, incluso presentar fallecimiento de un progenitor por causa infecciosa (30). La edad, presentando un pico en el periodo neonatal y otro en la ancianidad; el sexo masculino y la raza afroamericana. El alcohol (31) y el tabaco se asociaron también a un aumento en la mortalidad (32) así como también el déficit de vitamina D (33).

En Estados Unidos se estima un coste anual asociado a los cuidados de pacientes sépticos de 24,3 mil millones de dólares (34). En España los costes generados por la sepsis grave suponen unos 10.000 euros por episodio, resultando estos más elevados en los fallecidos frente a los supervivientes (11.200€ vs 9.494€), en probable relación con la mayor gravedad y mayor esfuerzo terapéutico que reciben (35). De forma global se estima un gasto en España que rondaría los 345 millones de euros anuales (35). El gasto fue mayor en bebés, los que requirieron ingreso en UCI, los pacientes quirúrgicos y los pacientes con más fallos orgánicos (36).

Entre los supervivientes, las secuelas a largo plazo suelen pasar a un segundo plano, sin embargo, presentan un elevado impacto tanto a nivel individual (calidad de vida, con un aumento de la dependencia funcional, las rehospitalizaciones y la mortalidad tardía) como a nivel del propio sistema sanitario por sus costes elevados y sostenidos en el tiempo (35).

1.4 Fisiopatología

Entender la fisiopatología de la sepsis resulta fundamental para diseñar estrategias terapéuticas dirigidas. Este proceso es cada vez más conocido implicando múltiples sistemas: respuesta inflamatoria, activación del sistema inmune innato, disfunciones en la coagulación y en la perfusión de los tejidos, así como eventos de inmunosupresión que pueden favorecer la persistencia de la infección. A continuación, se analizan en profundidad los principales mecanismos fisiopatológicos.

1.4.1 Alteraciones celulares y moleculares en la sepsis

1.4.1.1 Activación del sistema inmune innato

La sepsis es fundamentalmente una enfermedad inflamatoria mediada por la activación del sistema inmunológico innato y adaptativo. El primer evento que se produce es la activación masiva de la inmunidad innata por reconocimiento de patógenos. Para ello se requiere el reconocimiento de productos microbianos derivados de la infección (PAMP), como lipopolisacárido bacteriano (LPS), peptidoglucano, ADN microbiano, así como los productos de lesión tisular del huésped (DAMP). Dicho reconocimiento se llevará a cabo por parte de los receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) de células presentadoras de antígeno (CPA) como monocitos, macrófagos y neutrófilos (37).

1.4.1.2 Tormenta de citocinas

El reconocimiento de DAMPS y PAMPS activará múltiples vías de señalización, entre la que se destaca la vía del factor nuclear NF- κ B. Dicha activación conducirá así a la expresión de genes que participan en la inflamación, la inmunidad adaptativa, el metabolismo celular y la activación del complemento (Figura 7). En minutos se liberan grandes cantidades de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, interferón- γ) y también se activan cascadas efectoras como el complemento y la coagulación. Esta activación inmune inicial es esencial para contener la infección; sin embargo, cuando es exagerada o sistémica, sienta las bases de la respuesta séptica patológica (38).

1.4.1.3 Disfunción mitocondrial y estrés oxidativo

El estado inflamatorio séptico conlleva un estrés oxidativo intenso a nivel celular destacando la alteración de la obtención energética por parte de las mitocondrias. Durante la sepsis, factores como las enzimas RNS/ROS, la mitofagia alterada, la dinámica mitocondrial alterada y la permeabilización de la membrana, provocan la acumulación de mitocondrias defectuosas en las células y tejidos inmunitarios. Estas mitocondrias dañadas promueven la respuesta inmunitaria a través de vías clave reguladas por NLRP3, TLR9 y cGAS. Dichas alteraciones se verán reflejadas

en una disminución de la producción de ATP por inhibición de la respiración celular. A esto se asociará el potencial fallo en la perfusión tisular, lo que contribuye a la disfunción orgánica (39).

1.4.1.4 Inmunoparálisis

Otra faceta clave en esta patogénesis es la inmunosupresión profunda por doble motivo: apoptosis masiva de células dendríticas en el bazo, así como también agotamiento de linfocitos por falta de capacidad de regeneración tras una activación inicial masiva. La falta de capacidad inmune provocará un estado de anergia inmune resultando en un estado de susceptibilidad a nuevas infecciones secundarias oportunistas (40).

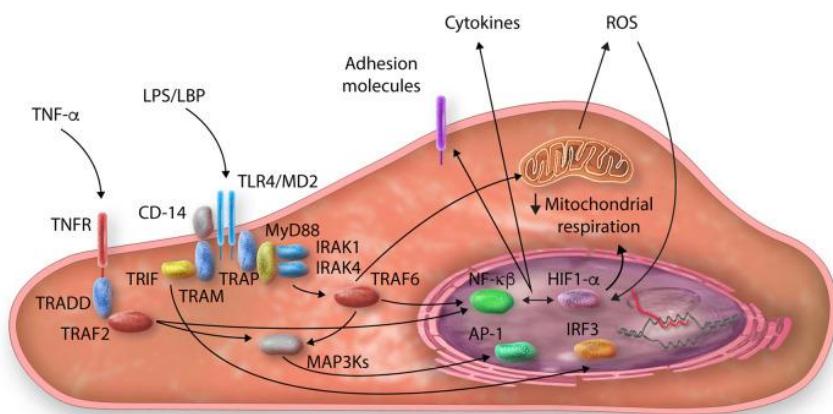


Figura 7 Ejemplos de vías inflamatorias dentro de las células endoteliales durante la sepsis. The effects of sepsis on endothelium and clinical implications (41).

1.4.2 Endotelio y coagulopatía en la sepsis

1.4.2.1 Disfunción endotelial

1.4.2.1.1 Aumento de la permeabilidad capilar

La alteración de las uniones estrechas que unen las células endoteliales se debe a la rotura de las cadherinas (VE) provocando la extravasación masiva de líquido y proteínas desde el espacio intravascular al intersticial (42). Esto genera un síndrome de fuga capilar que provoca edema tisular generalizado y dificultad respiratoria por edema alveolar (SDRA) (43).

El endotelio séptico también sufre degradación de su glicocálix (capa de proteoglucanos luminal), lo que agrava la pérdida de integridad de la barrera y favorece la adhesión de células sanguíneas a la pared vascular (44).

1.4.2.1.2 Alteración de la producción de óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es un vasodilatador y antiagregante clave. En sepsis, la inducción de la NO sintasa inducible (iNOS) en endotelio y músculo liso por TNF e IL-1 genera cantidades excesivas de NO, causando vasodilatación sistémica profunda e hiporreactividad vascular a catecolaminas vasoconstrictoras (45).

1.4.2.1.3 Adhesión y transmigración leucocitaria al endotelio

El endotelio expresa moléculas de adhesión a leucocitos y plaquetas a la pared vascular lo que provoca la pérdida de fluidez sanguínea, contribuyendo a la microtrombosis. Dicha acción se lleva a cabo en dos fases: en primer lugar, la adhesión leucocitaria a la pared del vaso por parte de las selectinas para, posteriormente, activar a los macrófagos por la expresión de integrinas en su superficie. Dicha unión firme se llevará a cabo por las moléculas de adhesión molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) y molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1). Esta interacción sólida facilita la migración transendotelial de los leucocitos hacia los tejidos lesionados (46).

1.4.2.1.4 Agregación plaquetaria

Las endotoxinas y citocinas en circulación pueden generar una activación linfocitaria que provoque la liberación de moléculas proinflamatorias como IL-6, IL-8, PAF y trombina. Estas, a su vez, estimulan a las plaquetas mediante receptores como TLR4, activándolas, lo que provoca su agregación en la microcirculación (mediada por P-selectina y vWF) y lleva a una disminución de plaquetas por consumo excesivo y menor producción. De ser así se observarán fenómenos hemorrágicos y trombóticos (47).

1.4.2.2 Alteración de la cascada de coagulación

La trombina es el elemento clave en la coagulación ya que induce activación leucocitaria, produce quimiotaxis, activa macrófagos, altera la permeabilidad endotelial y disminuye los niveles fisiológicos de antitrombina III, induciendo así la formación del trombo. La unión de trombina a trombomodulina produce la activación de la proteína C. La proteína C activada tiene un papel fundamental, junto a la antitrombina III, en disminuir la formación de trombina. Además, ayuda en la activación de la fibrinolisis para compensar los efectos de la excesiva cantidad de trombina circulante (48). En la sepsis disminuyen los niveles de trombomodulina por lo que la proteína C no se puede activar y así la trombina actúa sin retroalimentación negativa en las cascadas de inflamación y coagulación, e impide la fibrinolisis (39).

1.4.2.2.1 Coagulación intravascular diseminada (CID)

La sepsis es un proceso que involucra de forma interactiva todos los componentes anteriores. La suma de la disfunción endotelial provocando adhesión leucocitaria a las paredes de los vasos sanguíneos, con la expresión desmesurada de trombina sumado a la agregación plaquetaria generará un estado procoagulante generando microtrombosis y fenómenos hemorrágicos por consumo de factores de coagulación y plaquetas, lo que se conoce como CID (39).

1.4.3 Alteraciones hemodinámicas macrovasculares y microvasculares

Los fenómenos antes descritos se traducen clínicamente en su característico shock distributivo con patrón hemodinámico de vasodilatación sistémica, descenso de la resistencia vascular periférica, hipotensión resistente a fluidos y mala distribución del flujo sanguíneo.

1.4.3.1 Hemodinámica macrovascular

1.4.3.1.1 Vasodilatación sistémica

Las arteriolas de la circulación sistémica se relajan excesivamente debido a la acción de mediadores vasodilatadores liberados en masa (NO, prostaciclina, bradicinina, histamina, etc.), así como también a la disminución de la respuesta vascular a las catecolaminas por la inflamación. La reacción fisiológicamente normal al descenso de la TAM se basa en la activación del Sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) y un aumento del estado catecolaminérgico. En estos estados se destaca la disfunción de los receptores Angiotensina II tipo 1 (AT 1) y AT 2 por la regulación negativa inducida por la vía IL-1 β , TNF- α e IFN- γ que inhibe de forma selectiva la funcionalidad de AT 2 a pesar de altas concentraciones circulantes (49). Por la vía de TNF- α se describe la falta de respuesta a los agentes catecolaminérgicos como noradrenalina, por falta de expresión de receptores α 1-adrenérgicos, y vasopresina, por los receptores V1 del músculo liso vascular (50).

1.4.3.1.2 Reducción del gasto cardíaco

El aumento de la permeabilidad capilar contribuye a una reducción de la precarga por aumento del volumen en el espacio extravascular. En conjunto, la combinación de baja RVS y menor precarga conduce a una caída del gasto cardíaco efectivo si no es compensada. El conocimiento del concepto anterior nos permitirá conocer las tres fases del shock séptico:

- *Fase hipovolemia*: causada principalmente por pérdidas relativas de volumen, debidas al aumento de la capacitancia venosa y la disminución del volumen estresado que determina el retorno venoso. También influyen en la hipovolemia las pérdidas absolutas de volumen debidas a fiebre, disminución de la ingesta, sangrado y pérdidas gastrointestinales (51).

- *Fase hiperdinámica*: el organismo intenta compensar el bajo volumen sistólico mediante taquicardia e incremento del gasto cardiaco (52).
- *Fase hipodinámica*: Agotamiento de la capacidad cardíaca de compensación y aumento de vasoconstricción periférica para tratar de redistribuir la sangre a órganos vitales a expensas de piel, músculos, riñones y tubo digestivo dando lugar a la disfunción multiorgánica (53).

Resulta evidente la necesidad de monitorización hemodinámica de estos pacientes para saber en cuál de estas fases se encuentra lo cual es indispensable para definir el tipo de soporte requerido. La ecocardiografía avanzada se presenta como uno de los métodos más empleados en la actualidad. Dicha técnica permite la evaluación de los parámetros anteriormente mencionados siendo además capaz de definir la funcionalidad del ventrículo derecho (54).

1.4.3.2 Hemodinámica microvascular

1.4.3.2.1 Derivaciones microvasculares no funcionales

En la sepsis, los mecanismos de autorregulación microvascular se vuelven disfuncionales, dando lugar a una perfusión heterogénea: algunos capilares están dilatados y con flujo excesivo, mientras otros permanecen constrictos o colapsados sin flujo. Esta heterogeneidad produce "shunts" microvasculares, es decir, zonas perfundidas pero sin intercambio eficiente de oxígeno con los tejidos circundantes (55).

La sangre venosa puede retener oxígeno no extraído debido a regiones que están congestionadas y no logran cederlo a los tejidos, enmascarando la hipoperfusión de otras áreas. Este concepto dará lugar al concepto de saturación venosa central (SvO_2), que describe el equilibrio entre oferta y demanda que da lugar al concepto de perfusión tisular (Figura 8). Dicha relación nos indica la relación de oxígeno entre el consumo (DO_2) y el suministro (VO_2) basado en la fórmula $DO_2 - VO_2$ (16), estableciendo como punto de corte el 70% (56).

- $DO_2 = GC \times Ca O_2 = GC \times (1,34 \times Hb \times Sat. art O_2) \times 10$.
- $VO_2 = IC \times (Ca O_2 - Cv. O_2)$. $VO_2 = IC \times 1,34 \times Hb \times (sat. arterial O_2 - sat. venosa de O_2)$.

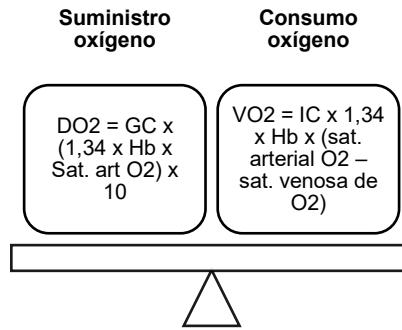


Figura 8 Fórmula saturación venosa central. Conceptos actuales 2007 (56).

1.4.3.2.2 Hipoxia tisular y metabolismo anaerobio

La consecuencia metabólica directa de la hipoperfusión microcirculatoria es un metabolismo anaerobio en las células afectadas lo que genera acumulación de lactato (Figura 9). La lactacidemia elevada en sepsis es un marcador de hipoxia tisular global o regional y se asocia con mal pronóstico, aumentando en tres veces el riesgo de mortalidad (57).

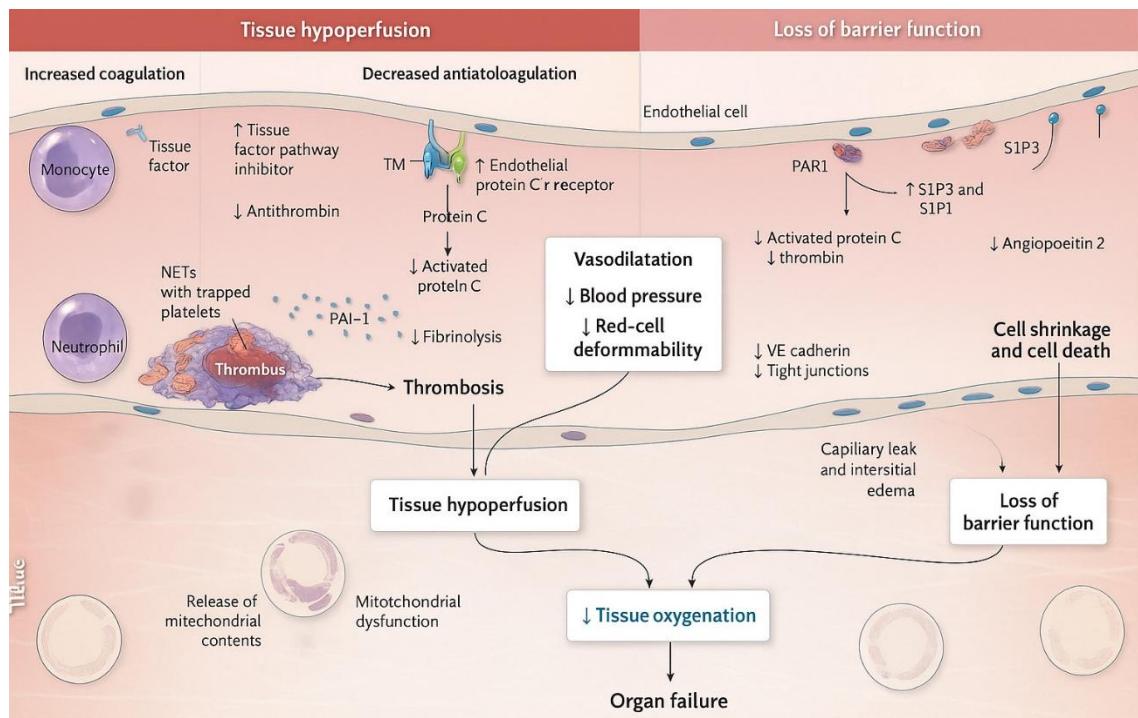


Figura 9 Resumen de la fisiopatología de la sepsis (58). Severe sepsis and septic shock.

1.4.4 Consecuencias funcionales: Fallo orgánico múltiple

Todos los mecanismos fisiopatológicos anteriormente mencionados confluyen en provocar daño y disfunción en múltiples órganos. La sepsis es fundamentalmente una enfermedad del organismo con afectación multiorgánica dando lugar a un cuadro de Síndrome de Disfunción Multiorgánica (SDMO), que es la principal causa de muerte en sepsis. A continuación, se describen las consecuencias típicas en los principales órganos diana (59).

1.4.4.1.1 Pulmonar

El pulmón suele ser el primer órgano en sufrir daño en la sepsis, ya sea por infección pulmonar directa o como consecuencia de mediadores inflamatorios sistémicos. La lesión pulmonar aguda grave en sepsis se manifiesta como Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo (SDRA), caracterizado por edema pulmonar no cardiogénico, imagen con opacidades bilaterales, hipoxemia refractaria y disminución de la compliance pulmonar (60).

A nivel patogénico, el SDRA por sepsis se debe a una lesión de la barrera alveolocapilar mediada por inflamación que provoca la extravasación de plasma hacia el intersticio y espacio alveolar. Al mismo tiempo, se produce apoptosis de células epiteliales alveolares tipo II disminuyendo la producción de surfactante lo que favorece las atelectasias. La consecuencia funcional del shunt pulmonar será la hipoxemia resistente al aporte de O₂ así como la retención de carbónico por dificultad ventilatoria (61).

1.4.4.1.2 Renal

El riñón es otro de los órganos frecuentemente afectados en la sepsis conociendo su alteración como insuficiencia renal aguda (IRA). La nefropatía séptica se caracteriza clínicamente por oliguria, azoemia progresiva, alteraciones electrolíticas y del equilibrio ácido-base (62). Tradicionalmente se describía la IRA como consecuencia de hipoperfusión por hipotensión dando lugar a necrosis tubular aguda. Sin embargo, cada vez son más los estudios que hablan de factores no asociados a isquemia. Al igual que ocurre a nivel periférico, la microcirculación renal presenta zonas de vasoconstricción y vasodilatación heterogéneas en la corteza y médula renal, con shunts y flujos redistribuidos debido a cascadas inflamatorias, lo que se traduce en riñones con alteración de la funcionalidad, aunque anatómicamente normales (63).

1.4.4.1.3 Hepático

Una manifestación frecuente de la disfunción hepática en el contexto de la sepsis es la colestasis séptica, definida como la retención biliar asociada a sepsis con vía biliar permeable. Clínicamente, se caracteriza por la aparición de ictericia con un aumento predominante de la bilirrubina y de

enzimas canaliculares como la fosfatasa alcalina (FA) y la gamma-glutamil transferasa (GGT). También pueden observarse coagulopatía e hipoglucemia como signos de compromiso hepático funcional (64).

Desde el punto de vista fisiopatológico, la colestasis séptica obedece tanto a factores hemodinámicos como moleculares. Por un lado, la hipoperfusión hepática, compromete el aporte de oxígeno a los hepatocitos centrolobulillares, afectando a los mecanismos de transporte y secreción biliar. Por otro lado, la respuesta inflamatoria sistémica propia de la sepsis, mediada por citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina-1 (IL-1), puede provocar alteraciones en el citoesqueleto de los colangiocitos y en sus uniones estrechas, dificultando el flujo adecuado de la bilis (65).

En algunos casos, a la colestasis séptica puede asociarse una hepatitis aguda, que se manifiesta por un marcado aumento de las transaminasas hepáticas. Esta condición refleja un mayor grado de compromiso hepatocelular y suele presentarse en el contexto de una respuesta inflamatoria sistémica intensa o de una hipoperfusión hepática prolongada (66).

1.4.4.1.4 Corazón: miocardiopatía séptica

La miocardiopatía séptica es una forma de disfunción cardíaca aguda inducida por la sepsis y caracterizada por una depresión de la función cardíaca que suele ser reversible tras la resolución del cuadro infeccioso (67). Esta disfunción cardíaca favorecerá la caída en estado de bajo gasto con baja perfusión periférica condicionando en muchos casos un proceso final de fallo multiorgánico (67). Los mecanismos de la miocardiopatía séptica son principalmente inflamatorios y metabólicos con efecto directo sobre los miocitos:

- La disminución de la fracción de eyección (FEVI) se deberá a la reducción de la entrada de Ca^{2+} por canales L y la liberación del retículo sarcoplásmico, así como la menor sensibilidad de las miofibrillas al calcio (68).
- Síntesis de óxido nítrico: el exceso de NO producido por la iNOS cardíaca durante la sepsis inhibe la cadena respiratoria dañando las membranas mitocondriales, induciendo una menor síntesis de ATP en el cardiomiocto. Este fenómeno conduce a un estado de disfunción miocárdica reversible (69).
- Reducción de la densidad de receptores betaadrenérgicos en el corazón y aumenta la expresión de proteínas inhibitorias (Gi), contribuyendo a una resistencia a catecolaminas endógenas (69).

1.4.4.1.5 Sistema nervioso central: encefalopatía séptica

El sistema nervioso central (SNC) también sufre los efectos de la sepsis, incluso en ausencia de infección cerebral directa. Se caracteriza por una alteración del sensorial con presentación clínica inespecífica que varía desde delirium hasta coma. La fisiopatología de la encefalopatía séptica es compleja y multifactorial. No existe una lesión focal única; más bien resulta de procesos sistémicos que afectan el cerebro a nivel funcional. Entre los mecanismos propuestos destacan:

- Disrupción de la barrera hematoencefálica (BHE): La inflamación sistémica daña las células endoteliales de la microvasculatura cerebral, aumentando la permeabilidad de la BHE permitiendo la entrada de citocinas circulantes, toxinas y células inflamatorias al sistema nervioso central (70).
- Neuroinflamación y activación glial: tras el paso de citocinas circulantes las microglías se activarán adquiriendo un fenotipo proinflamatorio. Dichas células liberarán a su vez citocinas (IL-1, IL-6, TNF) y óxido nítrico dentro del cerebro generando una inflamación cerebral difusa. Esta inflamación neural se traducirá en lesión del SNC por edema cerebral y disfunción neuronal directa (71).
- Alteraciones de neurotransmisores: En la encefalopatía séptica se ha observado un desequilibrio en los sistemas de neurotransmisión. Se teoriza acerca de la disminución de la actividad Gaba y de la actividad colinérgica, así como el aumento de triptófano y serotonina (72).
- Lesiones isquémicas: La hipotensión y baja perfusión en sepsis también pueden comprometer la perfusión cerebral, sobre todo si la autorregulación cerebral está alterada (73).
- Alteraciones metabólicas: la desregulación glucémica, aumentos de niveles de amonio o disminución de la oxigenación tendrán efectos neuronales directos con efecto en la apoptosis celular (74).

1.5 Diagnóstico

El diagnóstico de la sepsis resulta de gran interés por la dificultad del mismo y la falta de especificidad en los criterios tanto clínicos como analíticos (75). Esto obliga a los facultativos a establecer un diagnóstico, que muchas veces resulta de exclusión. Ante esa falta de criterios universales resulta mandatorio la búsqueda de nuevos marcadores.

Si analizamos la epidemiología de la sepsis hasta en el 76.09% no se identificó agente causal, 15.55% fueron gram negativos, 0.67% anaerobios, y 9.85 de gram positivos (5). En cuanto al foco resulta interesante destacar la prevalencia de origen abdominal 37-55%, urológico 18-8%, neumonía 14-32%, partes blandas 4-4%, catéteres 3-7%, SNC 2-2% y desconocido 2-16% (76).

En cuanto al origen, ya sea en la comunidad frente a nosocomial, la fuente de la infección no resulta determinante en cuanto a mortalidad (77).

1.5.1 Clínico

El diagnóstico de la sepsis continúa siendo un desafío clínico significativo, especialmente en sus fases iniciales. A menudo, se trata de un diagnóstico complejo e incluso de exclusión. Por ello, resulta fundamental integrar una valoración clínica exhaustiva, basada en una historia clínica detallada y una exploración física dirigida, con el apoyo de parámetros diagnósticos complementarios. Resulta importante conocer la clínica en función del microorganismo implicado, la presencia de enfermedades concomitantes o el consumo de determinados fármacos. Estos factores pueden actuar como elementos de confusión al enmascarar otras patologías o presentarse con signos y síntomas atípicos, lo que dificulta aún más la evaluación clínica inicial (16). En caso de evolución hacia shock séptico, los pacientes tienden a compartir características como hipoperfusión periférica, hipotensión persistente y bajo gasto cardíaco elevado, independientemente del origen de la infección (15).

1.5.2 Técnicas convencionales: laboratorio, biomarcadores y microbiología

Las características clínicas pueden orientar tanto en el enfoque diagnóstico como en el foco, pero los datos deben ser refrendados por parámetros objetivos y reproducibles para los que necesitamos la colaboración de servicios centrales como análisis clínicos o microbiología.

1.5.2.1 Laboratorio

Las características de laboratorio son inespecíficas y pueden estar asociadas con anomalías debido al foco o a la disfunción orgánica debidos a la sepsis. Entre los hallazgos más comunes se incluyen: leucocitosis o leucopenia, presencia de formas inmaduras en sangre periférica superiores al 10%, neutrofilia, trombocitopenia, hipoxemia arterial, hiperglucemia, aumento de creatinina, disminución en el aclaramiento de creatinina, alteraciones en los parámetros de coagulación (como el tiempo de protrombina y el tiempo parcial de tromboplastina activada), hiperbilirrubinemia, hiperamonemia e hiperlactacidemia (78).

1.5.2.2 Biomarcadores

Como se comentó anteriormente con las escalas clínicas, se puede informar de diagnóstico, pronóstico o seguimiento. Lo mismo ocurre con los distintos biomarcadores. Actualmente se encuentran en la práctica de la clínica diaria, ya de forma validada, biomarcadores como la proteína C reactiva (PCR) y la procalcitonina (PCT) aunque no se han demostrado biomarcadores exclusivos para la sepsis (79).

La PCR es sintetizada por el hígado, principalmente en respuesta a la interleucina 6 como reactante de fase aguda. La PCR aumenta en el organismo en estados proinflamatorios como la infección o el daño tisular por otras causas como traumatismos, enfermedades autoinmunes o quemaduras. Los niveles aumentan entre las 12 y 18 horas después de la inflamación, y su vida media en circulación es aproximadamente de 19 horas. A pesar de no ser un biomarcador específico al resultar elevada en otras patologías inflamatorias, puede monitorizar el estado inflamatorio en la evolución de los procesos sépticos (80). El punto de corte de esta proteína establecido para la detección de infecciones se fijó en torno a los 10 mg/dL, con una sensibilidad del 88% y una especificidad del 58%, observándose una correlación entre la concentración plasmática y la gravedad de la infección (81). La modesta especificidad de la PCR la convierte en un biomarcador con ciertas limitaciones, que en ocasiones provoca falsos positivos derivados de procesos inflamatorios no infecciosos (82).

La PCT es un precursor de la hormona calcitonina que es sintetizada fisiológicamente por las células C de la glándula tiroides (83). Los niveles aumentan entre 2 y 3 horas después de la infección, superando los valores normales entre 6 y 12 horas, y alcanzando su pico a las 24 horas, lo que permite utilizarlos como biomarcador para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de la enfermedad (84). Un nivel elevado de PCT no es exclusivo de las infecciones bacterianas, ya que también puede estar elevado en otros escenarios, como infecciones fúngicas sistémicas, traumatismos o patologías relacionadas con la insuficiencia renal pero, a pesar de ello, la PCT presenta una sensibilidad 77% y una especificidad de 79% para diferenciar entre sepsis y el SIRS (85).

Tal y como se ha descrito anteriormente muchos son los avances a nivel experimental, aunque estos no se han podido reproducir y extrapolar a las guías de práctica clínica. Dicho paso permitiría una visión radicalmente diferente al enfoque actual. Adicionalmente a los biomarcadores ya validados, presentaremos aquéllos que se encuentran en fase experimental.

La presepsina (sCD14-ST) es una forma soluble de la glicoproteína CD14, generada tras la activación de monocitos durante la fagocitosis, especialmente en infecciones bacterianas. El CD14, tanto en su forma de membrana (mCD14) como soluble (sCD14), actúa como receptor del complejo LPS-LBP, iniciando una cascada inflamatoria mediada por TLR4 que activa el factor nuclear kappa B y promueve la liberación de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6 e IL-8. La presepsina se eleva rápidamente en fases tempranas de la sepsis, alcanzando su pico a las 24 horas, lo que la posiciona como un potencial marcador temprano, con valores <200 pg/ml sugiriendo exclusión de sepsis y valores >300 pg/ml indicando posibilidad de sepsis (86). Sin embargo, aunque hay estudios que muestran su utilidad en el manejo guiado de sepsis,

su especificidad es limitada en pacientes con ciertas comorbilidades como enfermedad cardíaca, hepática o hiperglicemia, lo que reduce su valor diagnóstico en ciertos contextos clínicos (86).

El biomarcador suPAR (receptor soluble del activador del plasminógeno tipo uroquinasa) ha emergido como un potente indicador pronóstico en pacientes críticos. Su utilidad en el contexto de la sepsis se señala a partir de niveles séricos >12 ng/ml como predictivos de mayor mortalidad, con alta sensibilidad y especificidad (87). Sin embargo, pese a su valor en la estratificación del riesgo y la predicción de desenlaces adversos, también se eleva en otras condiciones inflamatorias (88).

La pro-adrenomedulina regional media (MR-proADM) es el precursor de la bio-ADM, un péptido de calcitonina similar a la procalcitonina que pertenece a la familia de los péptidos de calcitonina que presenta una su vida media de varias horas (89). Se han descrito altos niveles en pacientes sépticos, interactuando directamente con la relajación del tono vascular, desencadenando hipotensión en estos pacientes. También se encuentran altos niveles en otras enfermedades como la hipertensión, la insuficiencia cardíaca, la insuficiencia respiratoria, la insuficiencia renal, la cirrosis y el cáncer. La MR-proADM se ha identificado como un marcador pronóstico en la estratificación del riesgo con una elevada sensibilidad y especificidad (90). Sin embargo nuevos estudios deben ser realizados al elevarse también en pacientes sometidos a cirugía cardíaca con circulación extracorpórea (91).

La forma transmembrana y soluble de FLT-1 (SFLT-1) es un biomarcador de regulación de la neoangiogénesis. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un regulador clave de angiogénesis normal, durante la cual promueve en las células endoteliales supervivencia, crecimiento y migración (92). El nivel sérico de s-Flt1 fue significativamente mayor en pacientes sépticos que en pacientes con hemocultivos negativos, así como una concentración significativamente mayor de sFlt-1 que en individuos sanos. El nivel sérico de s-Flt1 mostró una diferencia significativa entre la sepsis por gramnegativos y la grampositiva (93). La puntuación mostró una tendencia positiva de correlación en cuanto a la gravedad con el aumento del nivel de sFlt-1 (94).

Syndecan-1 (SDC1) se trata de un biomarcador de daño de glicocálix plasmático (95) que se ve aumentado tras la degradación del mismo en patologías como sepsis (96) o trauma grave (97).

La molécula-1 específica de las células endoteliales (ESM-1), es un proteoglicano soluble derivado del endotelio que participa en procesos biológicos fundamentales de las células endoteliales, incluida la adhesión, migración, proliferación y neoangiogénesis celular. Tras la activación de las células endoteliales por estímulos virales, bacterianos e inflamatorios, la síntesis de ESM-1

aumenta notablemente. La función de ESM-1 durante la fase aguda de la inflamación es la unión y el desplazamiento de los leucocitos al sitio de la inflamación (98).

VCAM-1 e ICAM-1 pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas, moléculas de adhesión celular, que son importantes para la adhesión firme y la migración transendotelial (99). La estimulación endotelial por interleucina-1 (IL-1) o el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), estimulará las citocinas proinflamatorias activando el endotelio. La activación de esta vía de señalización celular tiene como resultado una regulación positiva de las moléculas de adhesión celular endotelial VCAM-1 e ICAM-1 presentando sus moléculas solubles sICAM-1 y sVCAM-1 en plasma, que serán las que se consideren marcadores de lesión endotelial (100). sVCAM-1 soluble está asociada con sepsis, predicción de mortalidad, SIRS y gravedad de la sepsis (101).

La angiopoietina-1 y 2 (Ang-1 y 2) son proteínas secretadas, producidas en las células endoteliales y almacenada previamente en los cuerpos de Weibel-Palade junto con el Factor Von Willebrand. La liberación de Ang-1 y 2 de las células endoteliales disfuncionales a la circulación puede preceder a una lesión endotelial profunda, incluida la alteración de las uniones adherentes y la liberación de proteoglucano endotelial a la circulación (102). Varios estudios observacionales centraron sus esfuerzos en plantear su correlación con la sepsis, su gravedad, otros parámetros de inflamación (103), y coagulación intravascular diseminada (104).

1.5.2.3 Microbiología

Los cultivos se consideran Gold Estándar para el aislamiento microbiológico del paciente crítico. Para ello se recomienda la obtención de cultivos en función del foco de sospecha antes del inicio de tratamiento antibiótico en un periodo menor a 45 minutos (105). En caso de posibilidad de bacteriemia se deben sacar dos conjuntos de hemocultivos (frascos aeróbicos y anaeróbicos) de dos lugares distintos de punción (106). Nunca se retrasará el inicio de tratamiento antibiótico a la obtención de muestras teniendo en cuenta el potencial resultado negativo del mismo.

Tal y como hemos comentado anteriormente los cultivos resultan mandatorios, aunque cada vez las técnicas moleculares van cobrando mayor importancia. Esta técnica está permitiendo una identificación más rápida (1-6 horas), así como identificación de múltiples microorganismos, incluso en pacientes con cultivos negativos o que ya han recibido antibióticos (107). Cabe destacar que los nuevos paneles tienen capacidad de identificar mecanismos de resistencia antibiótica. Sin embargo, el coste actual así como la falta de diferenciación entre colonización frente a infección activa requiere continuar el desarrollo de esta técnica tan prometedora (84).

La identificación del microorganismo causal es condición indispensable para pasar de un SIRS a una sepsis, aunque muchos pacientes serán considerados como sépticos a pesar de presentar

cultivos negativos (posible decapitación de antibióticos previos), al valorar otros parámetros como la clínica, hallazgos radiológicos compatibles y analítica de infección (108).

1.5.3 Escalas

Las escalas en medicina son herramientas que permiten a los profesionales de la salud evaluar de forma sistematizada una serie de ítems que facilite un proceso. Los procesos fundamentalmente serán diagnósticos y pronósticos, aunque es importante no olvidar de las escalas pronóstico que surgen del estudio de las comorbilidades. Dichas escalas requieren un proceso de validación, cuyos aspectos a destacar fundamentalmente serán su sensibilidad, especificidad y área bajo la curva.

Las herramientas de detección de sepsis están diseñadas para promover su identificación temprana. Consisten en uso de escalas validadas que algunas también servirán para el tratamiento temprano de la enfermedad en cuestión (37).

En cuanto a la sepsis propiamente dicha, destacaremos las escalas de detección y las de gravedad. Las primeras son especialmente interesantes, ya que es una patología tiempo-dependiente, en la que el pronóstico dependerá en gran medida del tratamiento instaurado en la llamada hora de oro. En cuanto a las escalas de gravedad, señalar la importancia de estas para dilucidar el mejor tratamiento empírico del paciente, el lugar donde debe ser tratado o las medidas terapéuticas según sus comorbilidades.

1.5.3.1.1 Escalas predictivas

- APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation): Predice riesgo de mortalidad hospitalaria en pacientes UCI (109).
- SAPS (Simplified Acute Physiology Score): Evaluación pronóstica de mortalidad en UCI (110).
- LODS (Logistic Organ Dysfunction System): Modelo logístico que predice la probabilidad de muerte a partir de disfunción orgánica (111).
- CDS (Charlson Comorbidity Score): Evalúa comorbilidades crónicas para predecir mortalidad a 10 años (112).

1.5.3.1.2 Escalas de gravedad

- SOFA (Sequential Organ Failure Assessment Score): Diagnóstico y seguimiento del shock séptico (113).
- qSOFA (Quick SOFA): Uso en servicios de urgencias o enfermería predicción sepsis (114).
- MODS (Multiple Organ Dysfunction Score): Evaluación secuencial de disfunción multiorgánica (115).

El desarrollo de la puntuación SOFA (Tabla 3) pretende describir objetiva y cuantitativamente el grado de disfunción orgánica a lo largo del tiempo y evaluar la morbilidad en la unidad de cuidados intensivos tras las nuevas definiciones de la clasificación Sepsis - 3. Dicha escala resulta especialmente interesante, ya que describe la disfunción orgánica como un cambio agudo en la puntuación SOFA total ≥ 2 puntos como consecuencia de la infección. Este cambio es el que implicará el paso de infección a sepsis. También se ha utilizado para predecir la mortalidad, aunque en origen no fue desarrollado para este propósito (113).

Sistema	Parámetro	0	1	2	3	4
Respiratorio	PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	> 400	≤ 400	≤ 300	≤ 200	≤ 100
Coagulación	Plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	> 150	≤ 150	≤ 100	≤ 50	≤ 20
Hepático	Bilirrubina (mg/dL)	< 1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	≥ 12.0
Cardiovascular	TAM (mmHg)	No hipotensión	<70 mmHg	Dopamina ≤ 5 o dobutamina	Dopamina > 5 o norepinefrina ≤ 0.1	Dopamina > 15 o norepinefrina > 0.1
Renal	Creatinina (mg/dL) o Diuresis (mL/día)	< 1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9 o < 500	> 5.0 o < 200
Neurológico	Glasgow Coma Scale	15	13-14	10-dic	06-sep	< 6

Tabla 3 Puntuación SOFA. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicentre, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine (113).

Con el objetivo de simplificar la escala SOFA se ideó el método qSOFA (Quick Evaluación de Insuficiencia Orgánica relacionada con la Sepsis) Tabla 4). Para ello, sólo se medían tres de las características básicas de los pacientes, sin embargo, en un estudio retrospectivo realizado por Askim Å et al. en pacientes ingresados en un servicio de urgencias con sepsis grave, el qSOFA no demostró ser una herramienta eficaz para la estratificación del riesgo ni para predecir la mortalidad (114).

	Parámetro	Valor
Frecuencia respiratoria	$\geq 22/\text{min}$	1 punto
Alteración del estado mental	Glasgow <15	1 punto
Presión arterial sistólica	$\leq 100 \text{ mmHg}$	1 punto

Tabla 4 Puntuación qSOFA. Evaluation of the (qSOFA) Tool in the Emergency Department Setting: Nurse Perception and the Impact on Patient Care (114).

M. Torsvik señaló la importancia de la enfermería en la sepsis. Se utilizó un diagrama de flujo para definir los tiempos en los que un médico debía evaluar a un paciente con sospecha de sepsis y establecer escalas propias de personal médico como SOFA o APACHE II (116). Mediante este proceso se puso en valor la importancia de la responsabilidad de la enfermería en la sepsis que condujo además en mejorar la supervivencia, disminuir la incidencia de sepsis grave/choque séptico y una estancia hospitalaria más corta en la UCI (Figura 10) (116).

Criterios SIRS		Número de criterios SIRS	Hemodinámico/ Fallo orgánico	Consulta médica en 20 minutos	Atención médica inmediata
Triaje se hizo:		Fecha Hora		Fecha Hora	Fecha Hora
Temperatura	<input type="checkbox"/> <36°C <input type="checkbox"/> >38°C	<input type="checkbox"/> Si >2 ir al siguiente <input type="checkbox"/> Si 0 o 1 reevaluar en 4 horas	Tensión arterial	<input type="checkbox"/> TAS >90mmHg	<input type="checkbox"/> TAS <90mmHg
Pulso	<input type="checkbox"/> >90lpm		Glasgow	<input type="checkbox"/> 14-15	<input type="checkbox"/> Desorientación aguda o Glasgow <13
Frecuencia respiratoria o pCO ₂	<input type="checkbox"/> >20/min <input type="checkbox"/> 4,3 kPa		Saturación	<input type="checkbox"/> >90% con oxígeno	<input type="checkbox"/> <90% con oxígeno
Leucocitos	<input type="checkbox"/> <4 x 10 ⁹ /L <input type="checkbox"/> >12x 10 ⁹ /L		Tiempo relleno capilar	<input type="checkbox"/> <3 segundos	<input type="checkbox"/> >3 segundos
			Lactato Plaquetas Diuresis	<input type="checkbox"/> <3mmol/L <input type="checkbox"/> >100x 10 ⁹ /L <input type="checkbox"/> >0,5mg/kg/h	<input type="checkbox"/> >3mmol/L <input type="checkbox"/> <100x 10 ⁹ /L <input type="checkbox"/> <0,5mg/kg/h
Consulta médica en los 20 minutos siguientes. El lactato sérico, los trombocitos y la excreción urinaria por hora pueden determinarse después de la consulta médica. Observar y registrar en la hoja clínica del paciente cada 4 horas. Las intervenciones médicas/enfermeras deben realizarse según el protocolo de sepsis.					
Consulta médica inmediata en caso de al menos 2 criterios SIRS y al menos una variable hemodinámica o de función orgánica anormal. El lactato sérico, los trombocitos y la excreción urinaria por hora pueden determinarse después de la consulta médica. Observar y registrar en la hoja clínica del paciente cada hora hasta que pueda ser trasladado a una unidad de cuidados intensivos. Las intervenciones médicas/enfermeras deben realizarse conforme al protocolo de sepsis.					

Figura 10 Diagrama propuesto en base qSOFA evaluado por enfermería. Traducido de *Early identification of sepsis in hospital inpatients by ward nurses increases 30-day survival* (116).

El APACHE es una de las escalas más utilizadas en Unidad de cuidados intensivos, que permite establecer la gravedad de la sepsis y predecir su pronóstico. Fue presentada originalmente en 1981 (117) teniendo cuatro versiones, siendo la más actualizada la del 2006 (109). Cada versión fue más completa que la anterior aumentando así su sensibilidad. A pesar de las mejoras metodológicas introducidas en la escala APACHE IV, su implementación clínica generalizada resultó limitada debido a su elevada complejidad por presentar hasta 142 variables, lo cual dificultaba su aplicación práctica.

Diversos estudios han señalado que, si bien APACHE IV presentaba una mayor capacidad de ajuste y predicción respecto a versiones previas, no ofrecía una mejora significativa en la extrapolación de resultados en comparación con la escala APACHE II, la cual mantenía una buena correlación con los desenlaces clínicos. Por estas razones, y considerando que el incremento en precisión no justificaba la carga operativa adicional, la versión APACHE IV fue progresivamente desestimada en la práctica clínica habitual, reservándose principalmente para estudios epidemiológicos o aplicaciones en investigación comparativa (Tabla 5) (118).

	Parámetro	0	1	2	3	4
Temperatura (°C)	< 34.0 o > 40.9	4	3	2	1	0
Presión arterial media (mmHg)	≥ 160	4	3	2	0	0
Frecuencia cardíaca (lpm)	≥ 180	4	3	2	0	0
Frecuencia respiratoria (rpm)	≥ 50	4	3	1	0	0
Oxigenación	A-a DO ₂ (FIO ₂ > 0.5)	> 500	4	3	2	0
pH arterial	≥ 7.7	4	3	1	0	2
Sodio (mEq/L)	≥ 180	4	3	2	1	0
Potasio (mEq/L)	≥ 7.0	4	3	1	0	2
Creatinina (mg/dL)	> 3.5	4	3	2	0	0
Hematocrito (%)	≥ 60	4	2	1	0	0
Leucocitos (x10³/mm³)	≥ 40.0	4	2	1	0	0
Glasgow	15	0	1	2	3	4
Edad (años)	≤ 44	0	2	3	5	6
Enfermedad crónica	No	0	2	5	6	-

Tabla 5 Puntuación APACHE – II. APACHE II: a severity of disease classification system (109).

El sistema de evaluación de la gravedad SAPS-II, fue desarrollado en 1993 por Le Gall y colaboradores, basado en el concepto de que, cuanto mayor sea la deviación de determinadas constantes fisiológicas respecto a sus valores normales, mayor será la gravedad del paciente. Esta escala permite estimar la probabilidad de mortalidad hospitalaria al ingreso en la UCI, facilitando la estratificación del riesgo y de la toma de decisiones clínicas (Tabla 6) (110).

	Parámetro	0	1	2	3	4
Edad	0-44 años	0	1	2	3	4
Frecuencia respiratoria (rpm)	0-9	0	1	2	3	4
Temperatura (°C)	< 30 o > 40.5	4	3	2	1	0
Presión arterial media (mmHg)	70-109	0	1	2	3	4
Frecuencia cardíaca (lpm)	< 40 o > 180	4	3	2	1	0
Sodio (mEq/L)	< 130 o > 180	4	3	2	1	0
Potasio (mEq/L)	< 3.0 o > 6.0	4	3	2	1	0
Creatinina (mg/dL)	< 0.6 o > 5.0	4	3	2	1	0
pH arterial	< 7.15 o > 7.65	4	3	2	1	0
Leucocitos (x10³/mm³)	< 1.0 o > 40.0	4	3	2	1	0
Hematocrito (%)	< 20	4	3	2	1	0
Glasgow Coma Scale	< 9	4	3	2	1	0
Síndrome de shock	Sí	4	3	2	1	0
Uso de catecolaminas	Sí	4	3	2	1	0
Enfermedad crónica	Sí	3	2	1	0	-

Tabla 6 Puntuación SAPS II. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicentre study (110).

La disfunción orgánica será finalmente estudiada por las escalas MODS (Multiple Organ Dysfunction Score) y el LODS (Logistic Organ Dysfunction System) (Tabla 7) (111). Ambas escalas son útiles para el diagnóstico del SIRS, no tanto para el diagnóstico diferencial entre patologías que induzcan un estado proinflamatorio agudo grave. Ambas presentaran correlación con la mortalidad en la UCI y en el hospital (115).

Parámetro	0	1	2	3	4
PaO₂/FiO₂	> 400	300-399	200-299	100-199	< 100
MAP	≥ 70	60-69	50-59	40-49	< 40
Bilirrubina (mg/dL)	< 1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	≥ 12.0
Creatinina (mg/dL)	< 1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9	≥ 5.0
Plaquetas (x10³/mm³)	> 150	100-149	50-99	20-49	< 20

Tabla 7. Puntuación MODS. Regulatory role of noncoding RNA in sepsis and sepsis-associated organ dysfunction: an updated systematic review (111).

El índice de comorbilidad de Charlson (CDS) tiene el objetivo de desarrollar un método que permita clasificar las condiciones comórbidas que podrían alterar el riesgo de mortalidad para su uso en estudios longitudinales. Tiene en cuenta tanto el número como la gravedad de las enfermedades comórbidas (Tabla 8) (112).

	Comorbilidad	Puntuación
Infarto de miocardio	Sí	1
Insuficiencia cardíaca congestiva	Sí	1
Enfermedad arterial periférica	Sí	1
Accidente cerebrovascular	Sí	1
Enfermedad pulmonar crónica	Sí	1
Diabetes sin complicaciones	Sí	1
Diabetes con complicaciones	Sí	2
Enfermedad renal crónica	Sí	2
Cáncer	Metastásico	6
	No metastásico	2
Cirrosis hepática	Sí	3
SIDA	Sí	6
Demencia	Sí	1

Tabla 8 Puntuación Índice de comorbilidad de Charlson. Readmission Prevention in Sepsis: Development and validation of a prediction model (112).

Para concluir, se presentan dos figuras y una tabla en la que se describe y compara de forma gráfica la buena correlación entre las escalas y el paciente crítico (Tabla 9 y figura 5 y 6) (119).

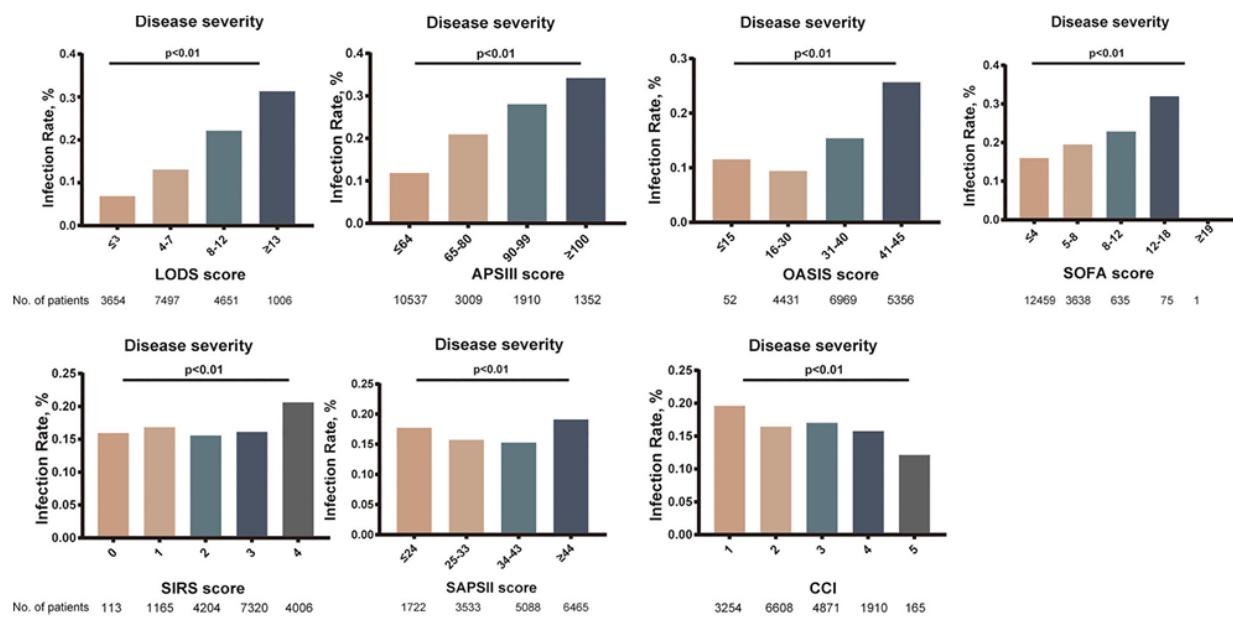


Figura 5 Relación entre la tasa de infección adquirida en la UCI y la gravedad de la enfermedad. Clinical characteristics and risk factors associated with ICU-acquired infections in sepsis: A retrospective cohort study (119).

Variables	AUROC	IC 95%	Valor P	Especificidad	Sensibilidad
LODS	0.655	0.642, 0.668	<0.001	0.603	0.635
APS III	0.657	0.644, 0.670	<0.001	0.612	0.624
OASIS	0.641	0.628, 0.654	<0.001	0.554	0.664
SIRS	0.529	0.515, 0.542	<0.001	0.773	0.28
SAPS II	0.535	0.521, 0.549	<0.001	0.57	0.499
SOFA	0.542	0.529, 0.556	<0.001	0.589	0.47
CCI	0.519	0.505, 0.533	<0.001	0.705	0.327

Tabla 9 Comparación de modelos de puntuación entre infección adquirida en la UCI y ninguna infección con sepsis adquirida en la UCI. Clinical characteristics and risk factors associated with ICU-acquired infections in sepsis: A retrospective cohort study (119).

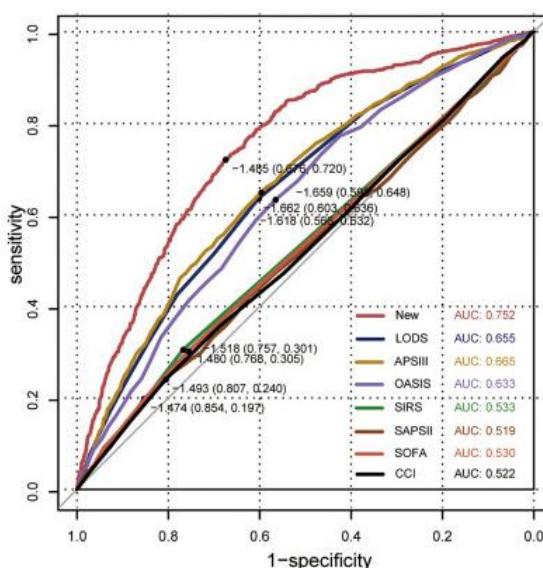


Figura 11 Área bajo la curva para la predicción de la gravedad. Clinical characteristics and risk factors associated with ICU-acquired infections in sepsis: A retrospective cohort study (119).

1.6 Tratamiento

El tratamiento de la sepsis se basará en tres pilares: resucitación hemodinámica, tratamiento antibiótico y control de foco, a los que se añadirá el tratamiento de soporte según las complicaciones asociadas.

1.6.1 Resucitación hemodinámica

La reanimación se deberá realizar guiada por objetivos y de forma protocolizada en las primeras 6 horas. Los objetivos fundamentales serán: PVC 8-12 mm Hg, TAM \geq 65 mm Hg, diuresis \geq 0,5 ml/kg/h, saturación de oxígeno venosa central (SvO₂) 70% y lactato <2 mmol/L (120).

1.6.1.1 Fluidoterapia

Se emplearán cristaloides de forma generalizada. La dosis tradicionalmente empleada es de 25-30ml/kg de acuerdo a distintas técnicas de monitorización, siempre guiado por objetivos (121). La falta de beneficios comprobados y el mayor costo de la albúmina en comparación con los cristaloides contribuyen a sugerir su uso en caso de dosis elevadas de cristaloides, sin embargo no está bien definido el umbral a partir del cual se considera altas dosis de cristaloides (122). No solo se observa gran beneficio secundario al aumento de presión osmótica, sino que juega un papel importante en la función antioxidante en el compartimento vascular (123).

El uso de almidones resulta contraindicado ya que presentan mayor riesgo de muerte el día 90 y más probabilidades de necesitar terapia de reemplazo renal (124).

1.6.1.2 Vasopresores

El objetivo de la terapia será mantener PAM de 65 mmHg para mantener la presión de perfusión tisular, aunque se deberá individualizar según otros motivos como la hipertensión arterial crónica (125).

La noradrenalina es el fármaco de primera elección por sus efectos α_1 en los vasos distales periféricos induciendo vasoconstricción con pocos cambios en la frecuencia cardíaca (126).

En caso de dosis de noradrenalina mayores o iguales a 0,5 mcg/kg/min, y ante la persistencia de un estado hemodinámico caracterizado por una disminución de las resistencias vasculares periféricas, se recomienda iniciar tratamiento con vasopresina, debido a su efecto vasoconstrictor mediado por los receptores V1a (127).

La adrenalina es la otra alternativa cuando se necesita un agente adicional, presencia de arritmias graves o gasto cardíaco disminuido (casos de miocardiopatía séptica) por su efecto α -adrenérgico puro y β 2 adrenérgico cardíaco (128).

Anteriormente el uso de dopamina por su efecto α_1 y efecto dopaminérgico sobre los vasos aferentes renales era de elección, pasando en la actualidad a estar contraindicado de forma generalizada por su riesgo arritmogénico (129).

1.6.1.3 Inotrópicos

Como se ha mencionado anteriormente, en la miocardiopatía inducida por sepsis, incluso pacientes con función cardíaca preservada pueden experimentar una reducción significativa del gasto cardíaco de forma reversible. A este grupo se suman aquellos con una fracción de eyección

reducida de forma crónica, independientemente de la causa subyacente. Ambos perfiles de pacientes pueden beneficiarse del uso de fármacos inotrópicos, siendo la dobutamina el inotrópico de elección, especialmente tras la realización de mediciones hemodinámicas avanzadas que permitan una evaluación precisa del compromiso cardiovascular (130).

1.6.1.4 Corticoterapia

Se recomienda el empleo de hidrocortisona en caso de uso de noradrenalina en dosis mayores o iguales a 0,3 mcg/kg/min por su efecto mineralocorticoide ante la insuficiencia suprarrenal relativa propia de la sepsis (131).

1.6.2 Terapia antimicrobiana

Si analizamos el perfil de las sepsis, en el 76.09% no se identificó agente causal, 15.55% fueron gram negativos, 0.67% anaerobios, y 9.85 de gram positivos (5). La infusión rápida de agentes antimicrobianos debe ser considerada una prioridad a marcarse durante la primera hora (132). Dichos antimicrobianos (antibióticos, antivirales, antifúngicos) deberán presentar un amplio espectro de actividad y se basará además en cuestiones complejas relacionadas con las alergias, la posible causa, su localización, el uso de antibióticos previos, inmunosupresión, microbiología local y colonizaciones previas del paciente (133).

Las decisiones sobre la elección definitiva de antibióticos (tratamiento dirigido, duración y vía de administración) deben basarse en el tipo de patógeno y las características del paciente una vez se tenga identificado el microorganismo causal valorando combinaciones de fármacos en caso de que sea necesario (134).

1.6.3 Control de foco

En cuanto al foco resulta interesante destacar la prevalencia de origen abdominal 37-55%, urológico 18-8%, neumonía 14-32%, partes blandas 4-4%, catéteres 3-7%, SNC 2-2% y desconocido 2-16%. Al comparar el origen de la fuente de infección, el que la misma fuera de adquisición nosocomial no resulta determinante en cuanto a mortalidad (25). Tras la confirmación de un foco de infección potencialmente mortal y abordable, resulta obligatorio el control de la fuente en las primeras 12 horas. Dicha intervención deberá ser la que menor daño fisiológico provoque (135). En caso de sospecha de infección de acceso intravascular se deberá valorar su retirada (136).

1.6.4 Soporte

La transfusión de hematíes tendrá un objetivo de concentración de hemoglobina de 7,0 a 9,0 g/dL (137). Los criterios de trasfusión de plaquetas serán de $\leq 10.000/\text{mm}^3$ en ausencia de sangrado aparente, $\leq 20.000/\text{mm}^3$ si el paciente tiene un riesgo significativo de sangrado o $50.000/\text{mm}^3$ en caso de sangrado activo, cirugía o procedimientos invasivos (138).

No se recomienda el uso de plasma fresco congelado para la corrección de alteraciones de la coagulación (139) ya que no consigue corregir el tiempo de protrombina en pacientes sin hemorragia, ni antitrombina al presentar un mayor riesgo de hemorragia (140). Más bien se empleará vitamina K y complejo protrombínico ya que el sistema de la proteína C está disminuido y éstas favorecen así la conversión de protrombina a trombina por su efecto inhibidor sobre los cofactores Va y VIIIa (141).

La sepsis puede inducir un estado de hiperglucemia, por lo que se recomienda mantenerla entre 110 - 180 mg/dL incluso asociando perfusión continua de insulina en caso de necesidad ya que además es un factor predictivo independiente de mortalidad (142).

Será fundamental el manejo respiratorio y renal en caso de fallos en dichos sistemas, así como también tanto la valoración del beneficio de la conexión a ventilación mecánica (143), como el uso de técnicas de depuración extrarrenal y uso de bicarbonato según cifras de pH (144).

Actualmente no se recomienda el uso de inmunoglobulinas al presentar una evidencia escasa de efectividad, aunque líneas experimentales siguen dicho camino en sus investigaciones (145).

No se recomienda el tratamiento con eritropoyetina (EPO), ya que aunque disminuía los requerimientos transfusionales, dicho efecto no se traducía en términos de mortalidad ni en la frecuencia de eventos adversos (146).

1.6.5 Tratamiento dirigido

Las nuevas líneas de tratamiento van encaminadas a nuevas terapias de soporte hemodinámico, recambio plasmático para la eliminación de citoquinas proinflamatorias, así como el tratamiento dirigido frente a mediadores proinflamatorios.

Las dosis de renina se encuentran aumentadas en la sepsis, por lo que se plantea el uso de la potenciación de la vía renina – angiotensina – aldosterona, para aumentar la presión arterial media en pacientes con shock vasodilatador resistente a catecolaminas. Para los pacientes con concentraciones de renina por encima de la mediana de la población de estudio, se describió una disminución de mortalidad a 28 días del 69,9% vs 51,1 %, disminución de la tasa de liberación de

la terapia de reemplazo renal para el día 7 en 43% vs. 12% así como probabilidad de alta UCI 28 días 44% vs 22%. Dichos datos no fueron refrendados en los pacientes críticos con cifras normales de renina. Por el contrario, no hubo diferencias estadísticamente significativas en la mortalidad a los 28 días para aquellos con concentraciones séricas de renina por debajo de la mediana de la población del estudio (147).

Una de las vías es la adsorción de moléculas proinflamatorias en pacientes con fracaso renal agudo que requieren terapias de reemplazo extrarrenal. Aún no está claro cuándo iniciar este tipo de tratamiento, dosis, tipo de terapia, indicaciones, así como definir su eficacia (148). Sin embargo ha demostrado ser eficaz para reducir las citocinas y posiblemente para atenuar los efectos devastadores de la tormenta de citocinas que se origina en la respuesta excesiva del sistema inmunológico al impacto inicial (149).

Otra potencial estrategia sería la plasmaférésis para el recambio plasmático completo para amortiguar la respuesta desadaptativa del huésped eliminando mediadores dañinos (150).

En cuanto a terapias monoclonales se está desarrollando un ensayo clínico con Adrecizumab. La vía ADM se encuentra ampliada de forma significativa empleándose el pro-ADM como biomarcador de diagnóstico de sepsis. Dicho ensayo toma esta diana terapéutica para dirigir su terapia (151).

1.6.6 Inteligencia artificial

La inteligencia artificial (IA) aplicada a la medicina, se enfoca en crear sistemas que puedan realizar tareas que normalmente requieren inteligencia humana, como el aprendizaje, el razonamiento y la percepción gracias al análisis de grandes bases de datos.

El reconocimiento y el tratamiento tempranos de la sepsis están relacionados con mejores resultados para los pacientes. Roy Adams et al. plantearon un estudio en el que se ponían en marcha sistemas de alerta temprana basados en aprendizaje automático pueden reducir el tiempo de reconocimiento. En cuanto a los resultados los pacientes del grupo intervención presentaron una tasa de mortalidad hospitalaria reducida absoluta (3,3% IC 95% 1,7 – 5,1), así como disminución en las tasas de insuficiencia orgánica y duración de la estancia en comparación con los controles (152). Los métodos actuales requieren de grandes optimizaciones ya que el 38% de las alertas evaluadas fueron confirmadas por un revisor (153).

Del mismo modo la inteligencia artificial se prevé que no solo tenga un papel en el reconocimiento temprano, sino que integre variables clínicas y analíticas, sirviendo como soporte y ayuda al tratamiento de forma integral del paciente.

2 Hipótesis

La investigación orientada a la identificación y caracterización de biomarcadores de los pacientes con sepsis surge como prioritario dada la elevada prevalencia y asociación con la morbimortalidad de esta patología. El análisis pormenorizado de la respuesta inflamatoria mediante técnicas de biología molecular permitiría la identificación de patrones específicos vinculados disfunción endotelial precoz y por ende la estratificación en base a perfiles de riesgo individualizados.

La bibliografía acerca de biomarcadores en la sepsis es muy extensa y no está completamente bien descrita. Por eso mismo nuestro grupo de trabajo propone, en primera instancia, extraer las conclusiones más significativas disponibles en las publicaciones recientes acerca de la sFLT-1 (uno de los biomarcadores de sepsis más descritos).

Adicionalmente, a partir del caso de cohortes retrospectivo, se realizará una nueva aproximación a esta problemática, no descrita previamente en la bibliografía, en la que se pretende validar tres biomarcadores como criterios de disfunción endotelial frente a vasoplejia funcional sin daño en el endotelio. De este modo se facilitaría un tratamiento más específico y eficaz a la vez que, simultáneamente.

3 Objetivos

3.1 Objetivo primario

- Valorar el uso del biomarcador sFLT-1 en el estudio del paciente con sepsis.
- Valorar la capacidad de clasificación de los pacientes en función de la presencia de disfunción endotelial.

3.2 Objetivo secundario

- Examinar la variabilidad de las concentraciones de sFLT-1 en pacientes con diferentes tipos de shock.
- Evaluar las diferencias en la expresión de biomarcadores entre individuos sanos y aquellos con infección, así como entre pacientes con sepsis y aquellos que han evolucionado a shock séptico, con el propósito de determinar el valor diagnóstico y pronóstico de estos marcadores en las distintas fases de la enfermedad.
- Analizar el papel del biomarcador sFLT-1 en la patogénesis y evolución clínica de pacientes con infección por SARS-CoV-2 que desarrollan neumonía grave.
- Caracterizar la disfunción endotelial para predecir pronóstico mediante escalas validadas (SOFA y APACHE II) y biomarcadores ya validados en la práctica clínica habitual (PCR y procalcitonina).
- Evaluar las diferencias en gravedad y mortalidad según la presencia de disfunción endotelial.

4 Material y métodos

Este trabajo de Tesis comprende dos ámbitos diferenciados y complementarios. Indicamos a continuación el material y métodos empleados en cada uno de ellos.

4.1 Investigación compendio-comparativa acerca de sFLT-1

Para la elaboración del presente estudio, se siguieron los principios metodológicos estandarizados en la investigación biomédica, garantizando el rigor científico en la recuperación, selección, análisis e interpretación de la evidencia disponible. Como eje central del análisis, se empleó nuestro artículo previamente publicado, el cual sirvió como hilo conductor en la estructuración y desarrollo del trabajo (154).

4.1.1 Revisión bibliográfica

Se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura con el objetivo de evaluar el biomarcador sFLT-1 en el contexto de la sepsis y el shock séptico. Para ello, se siguieron las directrices establecidas por la declaración Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA 2020), garantizando la transparencia y reproducibilidad del proceso de revisión.

La búsqueda bibliográfica se realizó en la base de datos PubMed, abarcando el período comprendido entre enero de 2010 y marzo de 2022. La estrategia de búsqueda se diseñó con el fin de maximizar la sensibilidad y especificidad de los resultados, utilizando los siguientes términos y operadores booleanos en la búsqueda avanzada: "sFlt-1 [All Fields] AND ("sepsis" [MeSH Terms] OR "sepsis" [All Fields])"

Como medida adicional para garantizar la calidad y validez del estudio, el protocolo de la revisión sistemática fue registrado en el International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) con el número de referencia CRD42023412929, cumpliendo con los estándares internacionales de transparencia en la investigación.

4.1.2 Criterios de elegibilidad

La formulación de las preguntas de revisión se estructuró siguiendo el marco PICOS (Participantes, Intervenciones, Comparaciones, Resultados y Diseño de estudio), con el fin de establecer criterios claros y reproducibles para la inclusión de estudios:

- **Participantes:** Se incluyeron estudios que evaluaran pacientes adultos (≥ 19 años) con diagnóstico confirmado de sepsis o shock séptico.

- Intervención: Evaluación del biomarcador sFLT-1 en el contexto de su utilidad diagnóstica y pronóstica en pacientes con sepsis y shock séptico.
- Comparación: No se aplicaron restricciones específicas en cuanto a los grupos de comparación, incluyendo estudios con controles sanos, pacientes con otras patologías inflamatorias o infecciosas, así como estudios sin grupo de control.
- Resultados: Se analizaron diferentes desenlaces clínicos, incluyendo la comparación de biomarcadores en pacientes con sepsis y shock séptico frente a controles sanos, su utilidad en el diagnóstico diferencial con otras patologías, y su relación con la disfunción orgánica, la gravedad de la enfermedad y el pronóstico clínico.
- Diseño del estudio: Se incluyeron estudios primarios como ensayos clínicos, estudios cuasiexperimentales, estudios de casos y controles, y estudios de cohortes

4.1.3 Criterios de inclusión y exclusión

Para garantizar la calidad y pertinencia de la información recopilada, se establecieron los siguientes criterios de inclusión en la revisión sistemática:

- Artículos originales publicados en revistas indexadas.
- Publicaciones en inglés.
- Estudios realizados en pacientes adultos con diagnóstico confirmado de sepsis o shock séptico.

En cuanto a los criterios de exclusión, se descartaron los siguientes tipos de publicaciones:

- Revisiones sistemáticas y metaanálisis, dado que el objetivo era analizar estudios primarios.
- Estudios en población pediátrica, debido a las diferencias fisiopatológicas entre la sepsis en adultos y niños.
- Publicaciones en idiomas distintos del inglés, para evitar posibles sesgos de traducción e interpretación.

Dado el impacto significativo que ha tenido la pandemia de COVID-19 en la fisiopatología de la sepsis y el shock séptico, se incluyeron aquellos estudios que evaluaran la expresión de sFLT-1 en pacientes con neumonía grave por SARS-CoV-2.

4.1.4 Cribado de la bibliografía

El proceso de cribado de los estudios recuperados se llevó a cabo en dos fases sucesivas:

- Revisión inicial por título y resumen: Dos revisores independientes analizaron los títulos y resúmenes.

- Revisión por texto completo: Los artículos preseleccionados fueron evaluados en su totalidad para determinar su inclusión final en la revisión.

Las decisiones sobre la inclusión o exclusión de estudios fueron tomadas de manera independiente por dos revisores. En caso de discrepancia, se discutieron los criterios de selección hasta alcanzar un consenso. Si persistía el desacuerdo, un tercer revisor actuó como árbitro para resolver la disputa y tomar la decisión final (Figura 12).



Figura 12 Diagrama de flujo del proceso de selección de estudios de acuerdo con las pautas de Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA).

4.1.5 Extracción de datos y evaluación de la calidad

La extracción de datos se realizó siguiendo un protocolo predefinido para garantizar la estandarización y reproducibilidad del proceso. Se registraron las siguientes variables de interés para cada estudio:

- Información general: Nombre del primer autor, año de publicación, país de origen, diseño del estudio, tamaño de la muestra y características de los participantes.
- Datos específicos sobre el biomarcador: Tipo de biomarcador analizado, valores medios y rango de sFLT-1, técnica de medición utilizada y umbrales de referencia.
- Parámetros de diagnóstico y pronóstico: Se recopilaron indicadores estadísticos como el riesgo relativo (RR), odds ratio (OR), intervalos de confianza (IC), área bajo la curva (AUC), sensibilidad, especificidad, tasa de falsos positivos y tasa de falsos negativos.
- Desenlaces clínicos de interés: Se analizaron los valores de sFLT-1 en diferentes contextos patológicos, su asociación con la disfunción orgánica, su correlación con la gravedad de la enfermedad y su utilidad en la predicción del pronóstico clínico.

4.2 Estudio de campo

4.2.1 Diseño del estudio

Se llevó a cabo un estudio multicéntrico observacional prospectivo de los pacientes ingresados en la UCI y REA del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Hospital Universitario de Soria, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Hospital Clínico de Salamanca, Hospital Universitario de Toledo y Hospital Clínico Universitario de Valencia (PI-FIS-21-2189).

4.2.2 Población

Se incluyeron 187 pacientes adultos (>18 años) tras la firma del consentimiento informado, que no cumplieran con ninguno de los siguientes criterios de exclusión: mujeres embarazadas, pacientes en situación terminal, o decisión de limitar el esfuerzo terapéutico. No se excluyeron pacientes con inmunosupresión potencial. Todos los pacientes fueron sometidos a procedimientos postquirúrgicos, agrupados de la siguiente forma:

- Grupo 1: Postquirúrgicos sin shock ni infección al ingreso en UCI.
- Grupo 2: Pacientes con sepsis.
- Grupo 3: Pacientes con shock séptico.
- Grupo 4: Pacientes con shock no séptico.
- Grupo 5: SRIS (Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica).

Se obtuvo consentimiento informado por escrito de los representantes legales de los pacientes que no podían consentir por sí mismos debido a alteraciones del estado mental.

4.2.3 Definiciones

Los grupos de sepsis y shock séptico se definieron según las guías clínicas de Sepsis-3 (17), mientras que el grupo SRIS se definió según los criterios de Sepsis-2 (16).

- Sepsis: Infección + puntuación SOFA ≥ 2 .
- Shock séptico: Sepsis + necesidad de vasopresores para mantener una presión arterial media (PAM) ≥ 65 mmHg y lactato ≥ 2 mmol/L a pesar de una resucitación con volumen adecuado.
- Shock no séptico: Necesidad de vasopresores para mantener una PAM ≥ 65 mmHg y lactato ≥ 2 mmol/L sin signos o sospechas de infección en el postoperatorio.
- SIRS: Ausencia de shock postoperatorio o infección documentada, pero presencia de ≥ 2 de los siguientes: temperatura corporal >38 °C o <36 °C, frecuencia cardíaca >90 /min, frecuencia respiratoria >20 /min o $\text{PaCO}_2 <32$ mmHg, leucocitosis $>12.000/\mu\text{l}$ o $<4.000/\mu\text{l}$ o $>10\%$ de formas inmaduras de neutrófilos.

4.2.4 Variables clínicas

- Datos de filiación del paciente (edad, sexo, altura, peso, índice de masa corporal (IMC), número de historia clínica, BOX, fecha ingreso UCI, fecha tratamiento quirúrgico, fecha alta UCI, fecha alta hospitalaria, duración intubación, fecha exitus)
- Comorbilidades (virus inmunodeficiencia humana, dislipemia, hipertensión arterial, uso crónico de corticoides).
- Datos analíticos: pH, bicarbonato (HCO3), Presión parcial CO2 (PaCO2), Presión Parcial Arterial de Oxígeno/Fracción Inspirada de Oxígeno (PaO2/FiO2), leucocitos, neutrófilos, linfocitos, proteína C reactiva, procalcitonina, lactato, ScvO2, cvaCO2 anión GAP, glucosa, creatinina, sodio (Na), potasio (K), troponina, creatina fosfocinasa, lactato deshidrogenasa, International Normalized Ratio (INR), hematocrito, plaquetas, fibrinógeno, bilirrubina y transaminasas.
- Exploración: Frecuencia cardíaca, presión arterial media, temperatura y temperatura.
- Puntuación en escalas: GLASGOW, SOFA y APACHE II
- Tipo de tratamiento antibiótico
- Características de la sepsis: localización, gravedad, temporalidad y etiología.

4.2.5 Periodo

Se recogieron datos de pacientes del periodo junio 2021 y diciembre 2023.

4.2.6 Metodología experimental

En el proceso de obtención de resultados se siguió una metodología estricta aplicando en todo momento los protocolos internos del hospital e indicaciones aportadas por la casa comercial, para la obtención, análisis y procesamiento de las muestras.

4.2.7 Obtención de muestras

De cada paciente se obtuvieron 2 tubos con EDTA (3 ml cada uno), 1 tubo con heparina (3 ml) y 1 tubo con Paxgene (2,5 ml). Las muestras se trasladaron directamente al laboratorio de investigación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV) donde se separó el plasma en una campana de flujo laminar, se alicuotaron las muestras y se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis.

4.2.8 Inmunoensayo

Se utilizó la técnica Luminex Flow Luminescence Immunoassay (FLIA) xMAP basada en perlas magnéticas. IS135-Human para el análisis de SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2 y LMB818Hu para VEGFR-1 de la casa comercial Cloud-Clone Corp. (TX, USA). De forma sintetizada se describe como una tecnología que utiliza perlas magnéticas marcadas con dos fluorocromos y conjugadas con anticuerpos específicos que unen a la muestra. Estos anticuerpos se unen a anticuerpos emitiendo señal fluorescente que detecta el equipo (Anexos 1 y 2).

4.2.9 Análisis estadístico

Las variables clínicas se presentaron primero como mediana (rango intercuartílico) o Número de pacientes (porcentaje) y se compararon entre subgrupos de pacientes basados en biomarcadores (Grupo 0 y Grupo 1) utilizando la prueba U de Mann-Whitney sin ajustar por covariables, considerando un valor $p < 0,05$ como significativo. A continuación, se llevó a cabo una regresión logística ajustada a edad y sexo a las variables que resultaron estadísticamente significativas. Las variables con un valor $p < 0,05$ tanto en el análisis ajustado como sin ajustar se incluyeron en el modelo de regresión logística multivariante, después de verificar la colinealidad a través del Factor de Inflación de la Varianza (VIF).

4.2.10 Identificación de subgrupos de pacientes

Se aplicó un enfoque de inteligencia artificial no supervisada basado en agrupamiento para la identificación de pacientes. Esta técnica permite el aprendizaje de patrones sin que se le proporcionen etiquetas o respuestas correctas de antemano. Este enfoque resultó útil al

desconocer el número de grupos y buscar descubrir subtipos de pacientes que podrían tener implicaciones clínicas distintas (155).

Para ello se empleó un modelo de mezcla gaussiana (GMM) para el agrupamiento que supone que los datos provienen de varias distribuciones normales. Este método permite que los grupos tengan diferentes formas y tamaños teniendo en cuenta la probabilidad de pertenecer a cada grupo (155).

GMM utiliza el algoritmo de expectativa-maximización (EM) para estimar los modelos de mezcla finitos correspondientes a cada número posible de clústeres (155). Se trata de un proceso iterativo que consta de dos pasos que se repite hasta que no puede mejorar más convergiendo en un modelo final:

- Paso de expectación: Estima a qué grupo podría pertenecer cada paciente
- Paso de maximización: Ajusta los parámetros del modelo para reflejar mejor esa agrupación

Por último, se aplicó el criterio de información bayesiano (BIC) para determinar el número óptimo de componentes de clústeres (155). Para ello se balancea:

- Explicación: Qué tan bien el modelo se ajusta a los datos
- Complejidad: Cuántos parámetros son evaluados para ajustar el modelo.

4.2.11 Gestión y análisis de datos

Se utilizó el adecuado soporte informático (Microsoft Office 10). Los datos se analizaron utilizando códigos personalizados internos y funciones base en Python 3.8.8 (Python Software Foundation, Wilmington, DE, EE.UU.).

4.2.12 Aspectos éticos

Se procedió a la confidencialidad de los datos personales y genéticos respetando en todo momento los principios éticos básicos de la investigación con muestras biológicas, y lo establecido por la legislación aplicable (Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales; Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica; y Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad. Del mismo modo se garantizó el cumplimiento de la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

Se cumplieron los principios éticos de investigación recogidos en la declaración de Helsinki y en el informe Belmont, así como los contenidos en la Declaración Universal de la UNESCO referentes al genoma humano. De igual manera se dio cumplimiento a la Ley Orgánica para la Regulación del Tratamiento Automatizado de Datos de Personal. Los datos de los pacientes se han almacenado en una base de datos anonimizada creada específicamente para fines de investigación y con acceso restringido tal y como se detalla en el apartado de gestión de datos.

La ejecución del proyecto no vio alterada la actitud diagnóstica ni terapéutica de los médicos participantes en el estudio, las cuales fueron establecidas por los mismos en base a los protocolos clínicos habituales (PI-FIS-21-2189).

4.2.13 Aspectos legales

El presente estudio se ha llevado a cabo con el análisis de los pacientes obtenidos en los proyectos financiados por el Instituto de Salud Carlos III y Gerencia Regional Salud:

- Dianas terapéuticas en Sepsis: En búsqueda del arca perdida (Indiana). Instituto de Salud Carlos III (PI21/00917). CEIC: PI-FIS-21-2189. Investigador Principal: Eduardo Tamayo Gómez. Colaborador del Hospital Universitario Santa Bárbara: Miguel Javier Ugalde Azpiazu.
- La huella diferencial pronóstica de sepsis: biomarcadores endoteliales. Gerencia Regional Salud (GRS 2782/A2/2023). CEIM: REF 2992. Investigador Principal: Miguel Javier Ugalde Azpiazu.

El protocolo del estudio ha sido aprobado por la Comisión de Investigación y la Comisión de Ética en Investigación Clínica (CEIC) del Área de Salud Valladolid Este y el Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos (CEIM) del Área Burgos-Soria. Todos los pacientes y controles (o sus representantes legales) serán informados acerca de los fines y protocolo del estudio y se les solicitará su consentimiento para su inclusión en el estudio, utilizando el modelo de consentimiento informado (CI) aprobado por el CEIC (Anexo 3 y Anexo 4).

4.2.14 Financiación

Se declara no existir conflicto de intereses. Como fuente de financiación externa:

- Instituto de Salud Carlos III año 2021 (PI21/00917).
- Proyecto de Investigación Biosanitaria, Gestión Sanitaria y Atención Sociosanitaria a desarrollar en los centros de la Gerencia Regional de Salud en el año 2024 de la Junta de Castilla y León (GRS 2782/A2/2023).
- Caja Rural de Soria.

5 Resultados

Los vamos a enumerar siguiendo el mismo criterio anterior:

- Resultados como fruto del trabajo de compendio de investigación desarrollado en esta tesis doctoral que dio lugar, entre otras, a la publicación del artículo *“Valor del biomarcador tirosina quinasa 1 soluble tipo fms (sFLT-1) en el diagnóstico y pronóstico de la sepsis: una revisión sistemática”*.
- Resultados como producto del estudio clínico.

5.1 Resultados como fruto del trabajo de compendio de investigación

La estrategia de búsqueda bibliográfica llevada a cabo en la base de datos PubMed permitió la recuperación inicial de un total de 27 artículos relevantes para el presente estudio. No obstante, con el objetivo de garantizar la pertinencia y actualidad de la evidencia recopilada, se procedió a aplicar criterios de exclusión estrictos.

En primer lugar, se eliminaron 3 artículos cuya fecha de publicación era anterior al año 2010, dado que las recomendaciones y el conocimiento sobre el tema han evolucionado significativamente en los últimos quince años. Asimismo, un artículo adicional fue descartado por estar redactado en un idioma distinto al inglés, dado que la revisión se ha circunscrito a estudios en este idioma para asegurar la accesibilidad y calidad metodológica de los mismos.

Posteriormente, se realizó una nueva depuración de la literatura seleccionada, en la que se excluyeron 6 artículos cuyos participantes eran pacientes menores de 19 años, dado que la presente investigación se centra exclusivamente en población adulta. Además, se eliminó una revisión sistemática, ya que el interés de este trabajo reside en estudios primarios que aporten datos originales sobre la relación entre el biomarcador en cuestión y la condición clínica evaluada. Asimismo, se excluyeron 4 estudios adicionales, debido a que su análisis del biomarcador se realizó en el contexto de la predicción de sepsis neonatal, una entidad que presenta particularidades fisiopatológicas, clínicas y evolutivas distintas de la sepsis en adulto.

Finalmente, un artículo fue descartado por centrarse en el estudio de la pancreatitis aguda, lo que se considera fuera del alcance del presente trabajo.

Tras la aplicación de todos los criterios de selección y exclusión mencionados, se obtuvo una muestra final de 11 artículos que cumplen con los requisitos metodológicos y temáticos establecidos para esta revisión. En cuanto al diseño de los estudios seleccionados, 10 de ellos corresponden a estudios observacionales prospectivos, permitiendo un análisis detallado de la evolución de los biomarcadores en el tiempo. Dentro de este conjunto, se identificó un estudio de casos y controles, diseño que permitió establecer asociaciones preliminares, mientras que los 9 restantes correspondieron a estudios de cohortes, los cuales proporcionaron una mayor robustez

a las inferencias realizadas. Entre estos últimos, destacan 2 estudios de cohortes prospectivos multicéntricos, que no solo incrementan la diversidad de la población estudiada, sino que también refuerzan la validez externa de los hallazgos al considerar distintos entornos clínicos. Adicionalmente, el último artículo seleccionado corresponde a un ensayo clínico, diseño que introduce un componente experimental clave para evaluar la relación causal entre el biomarcador y la patología estudiada.

Es relevante destacar que, a pesar de la diversidad metodológica y geográfica de los estudios incluidos, todos ellos comparten un elemento fundamental en su diseño: la toma de muestras sanguíneas en el momento del ingreso del paciente para la determinación del biomarcador de interés. Este aspecto es crucial, ya que permite la comparabilidad entre estudios, minimiza posibles sesgos derivados de variaciones en el momento de la recolección de la muestra y refuerza la validez de los resultados obtenidos en la presente revisión.

Veamos en detalle las principales conclusiones que obtenemos de los 11 artículos finalmente seleccionados para análisis y discusión. Dichas conclusiones las agrupamos en tres grupos diferenciados:

- sFLT-1 como biomarcador de clasificación de gravedad
- sFLT-1 como biomarcador predictor de mortalidad
- sFLT-1 como biomarcador diagnóstico y de gravedad en neumonía por SARS-CoV-2

Los valores de sFLT-1 se analizaron utilizando kits de inmunoanálisis ya comercializados tipo ELISA, fijando umbrales para los controles sanos de 136,2 (96,3-211), con una AUC = 0,70 (156).

5.1.1 sFLT-1 como biomarcador de clasificación de gravedad

Los artículos que se seleccionan que tenían como una de sus conclusiones fundamentales la relación con escalas de gravedad fueron un total de ocho:

5.1.1.1 Alves BE, et al. Time-course of sFlt-1 and VEGF-A release in neutropenic patients with sepsis and septic shock: A prospective study. *J Transl Med.* 2011;9:1–8 (157).

Se incluyeron 41 pacientes con fiebre neutropénica. Dentro de este grupo, 10 pacientes desarrollaron shock séptico frente a 31 que presentaron sepsis sin criterios de hipotensión. Se observó que los niveles de VEGF-A y sFlt-1 fueron similares en ambos grupos al inicio del episodio febril (NS), pero a las 48 horas los pacientes que evolucionaron a shock séptico presentaron niveles significativamente más altos de ambos biomarcadores en comparación con aquellos con sepsis no complicada.

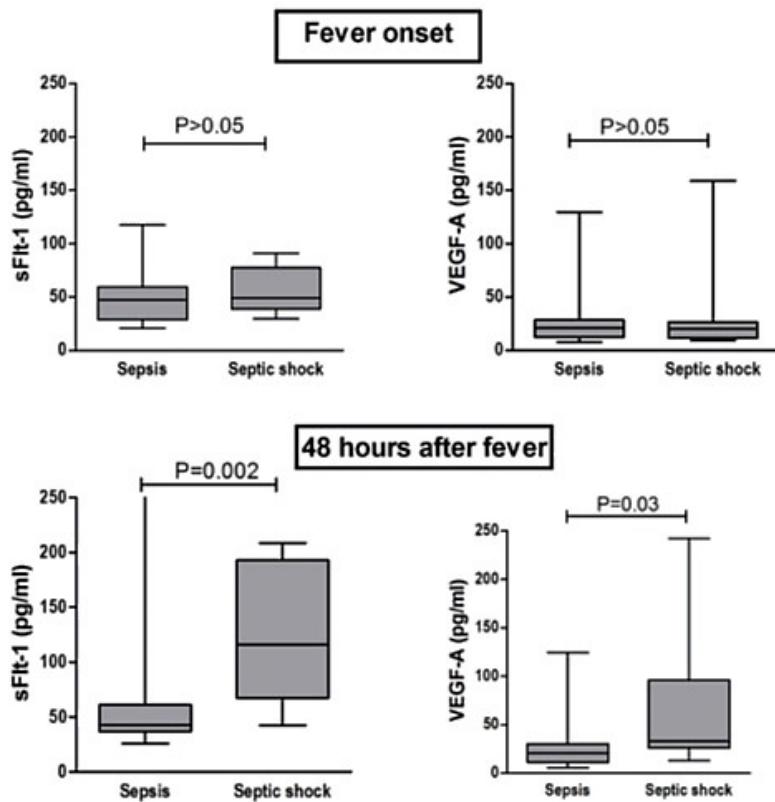


Figura 13 Diagramas de caja que representan las concentraciones seriadas de sFlt-1 y VEGF-A en pacientes con neutropenia febril con sepsis no complicada ($n = 31$) o con choque séptico ($n = 10$) al inicio de la fiebre y 48 horas después (157).

5.1.1.2 Schuetz P, et al. Influence of diabetes on endothelial cell response during sepsis. Diabetologia. 2011;54:996–1003 (158).

Se recogieron 207 pacientes distribuidos en tres grupos (34% sepsis leve, 32% con sepsis severa, 34% con shock séptico). Inicialmente se analizaron los biomarcadores en crudo en la que no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas. En cuanto al análisis por subgrupos los pacientes con diabetes mostraron niveles significativamente más altos de E-selectina y sFLT-1, particularmente en aquellos con shock séptico. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de VCAM-1, ICAM-1 ni PAI-1.

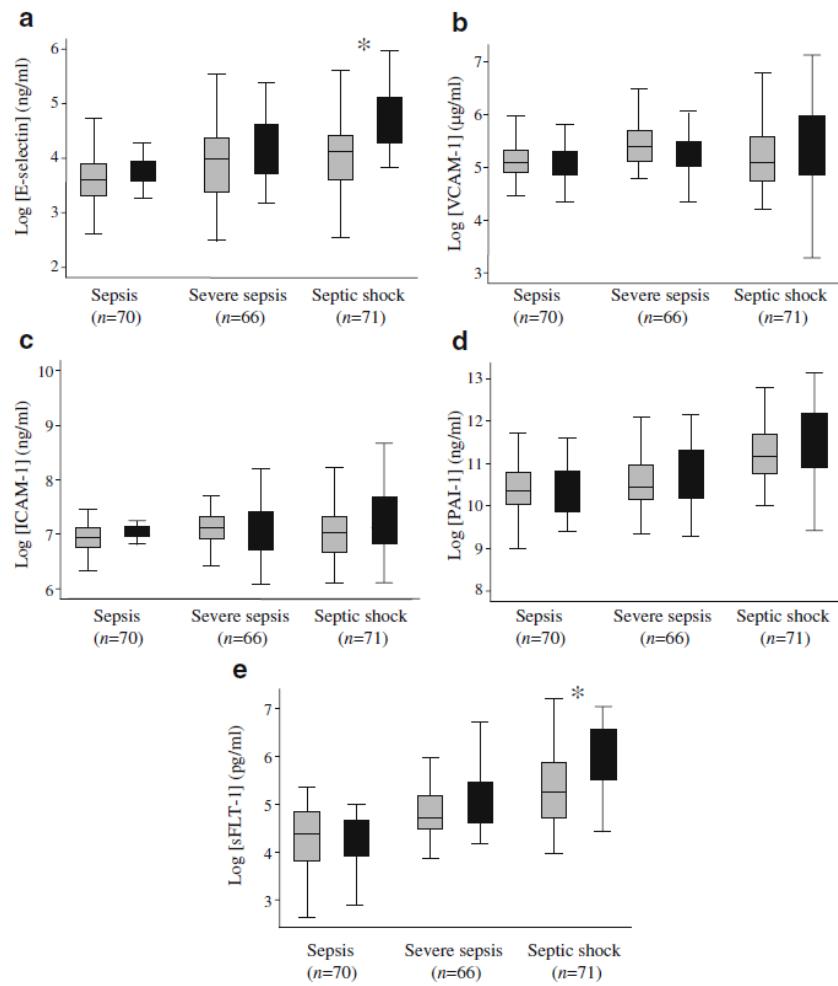


Figura 14 Niveles de biomarcadores en pacientes con y sin diabetes y con diferentes grados de gravedad de sepsis: (a) E-selectina; (b) VCAM-1; (c) ICAM-1; (d) PAI-1; y (e) sFlt-1. Barras grises: sin diabetes; barras negras: con diabetes (158).

5.1.1.3 Skibsted S, et al. Biomarkers of endothelial cell activation in early sepsis. Shock. 2013;39:427–32 (159).

Se incluyeron 166 pacientes, de los cuales 63 (38%) tenían sepsis, 61 (37%) sepsis grave y 42 (25%) choque séptico. Se encontró una correlación significativa entre los biomarcadores endoteliales y la gravedad de la sepsis. Cabe destacar una asociación fuerte entre sFlt-1 ($r = 0,58$) y PAI-1 ($r = 0,41$, $p < 0,001$) con la escala de predicción de mortalidad SOFA. Además, se observó una correlación significativa entre los diferentes biomarcadores, destacando la relación entre sFlt-1 y PAI-1 ($r = 0,61$, $p < 0,001$).

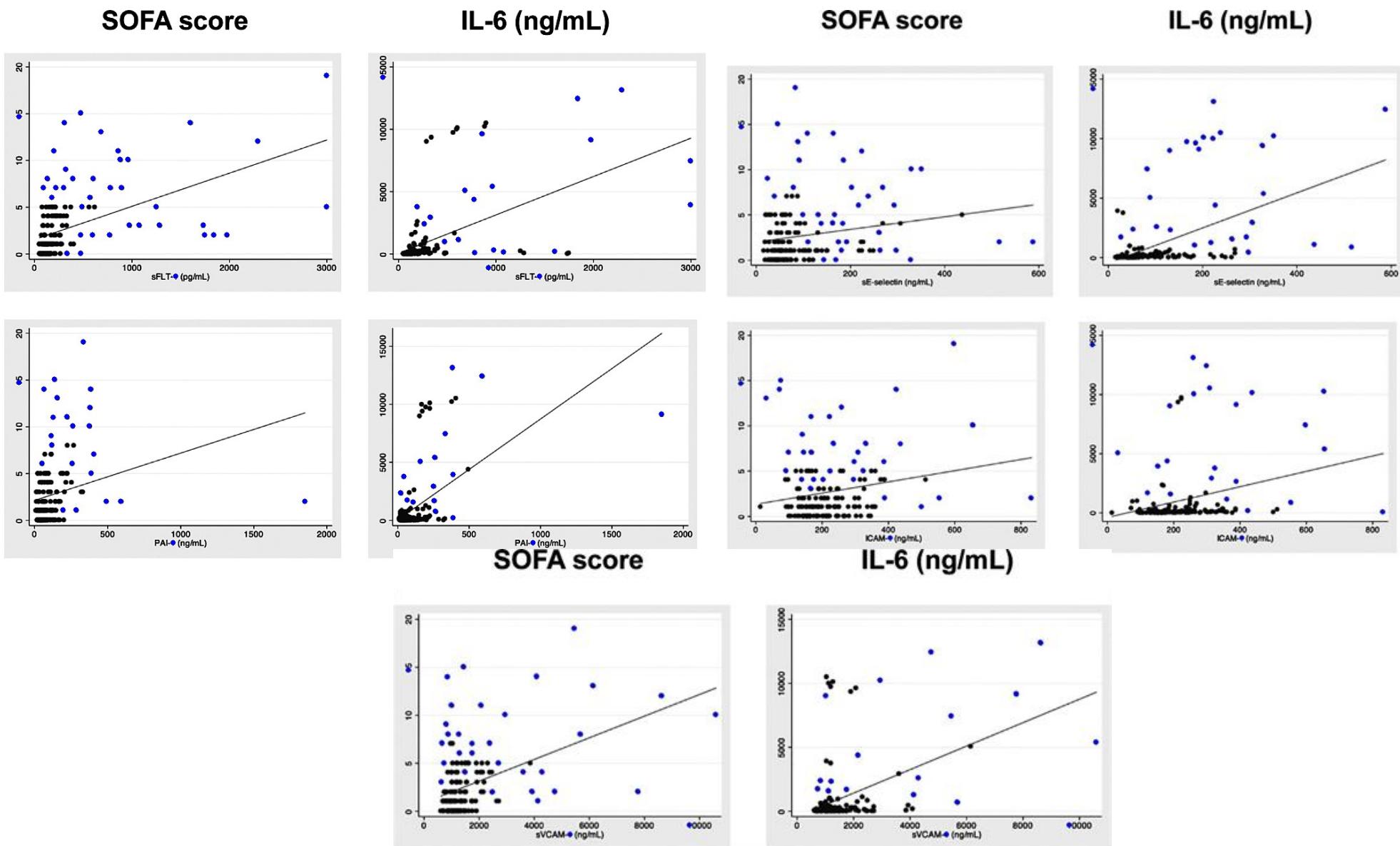


Figura 15 Correlación de los biomarcadores de activación de las células endoteliales con la puntuación SOFA y la IL-6 (156).

- 5.1.1.4 Fiusa MML, et al. A high angiopoietin-2/angiopoietin-1 ratio is associated with a high risk of septic shock in patients with febrile neutropenia. Crit Care. 2013;17:1–10 (160).

Se recogieron datos de pacientes en las primeras 24 horas tras el inicio de la fiebre, 99 pacientes con fiebre persistente ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) y neutropenia severa inducida por quimioterapia. Entre los pacientes seleccionados 20 desarrollaron shock séptico. Al contrario que los artículos anteriores encontraron datos no significativos para VEGF-A y sFLT-1 en cuanto al riesgo de desarrollar shock séptico. Sin embargo, Ang-2 estaba elevado en pacientes con shock séptico, mientras que Ang-1 estaba reducido, resultando en una proporción Ang-2/Ang-1 significativamente mayor en estos pacientes identificando el umbral de 5 como punto óptimo para predecir shock séptico, con una sensibilidad del 60% y una especificidad del 77%.

Cabe destacar que se obtuvo como resultado para tener en cuenta una mejor capacidad predictiva que otros factores comúnmente utilizados, como la PCR o el SOFA.

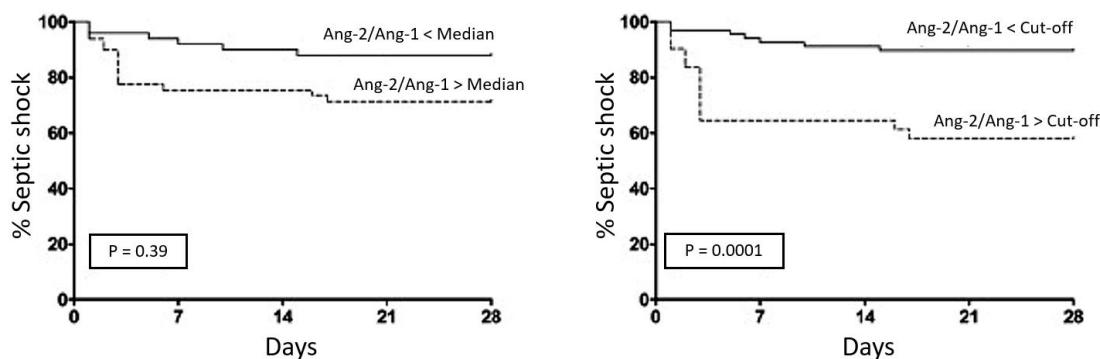


Figure 16 Estimaciones de Kaplan-Meier de desarrollo de shock séptico en pacientes con neutropenia febril según la relación Ang-2/Ang-1(157).

- 5.1.1.5 Skibsted S et al. The association of near infrared spectroscopy-derived StO₂ measurements and biomarkers of endothelial activation in sepsis. Intern Emerg Med. 2013;8:529–36 (161).

La espectroscopia pretende evaluar la capacidad del tejido para reoxigenarse tras un período de isquemia. Bajo esa teoría los autores pretendieron asociar los resultados post déficit de oxigenación con biomarcadores de activación endotelial. Se incluyeron 186 pacientes: 61 con shock séptico, 64 con sepsis sin shock y 61 controles. La StO₂ presentó una asociación estadísticamente significativa en la fase de recuperación postliberación de torniquete con sFLT-1 ($r = -0,08$, $p < 0,0001$) y PAI-1 ($r = -0,06$, $p < 0,0001$) en el análisis univariante. Sin embargo, tras

ajustar por variables como edad, diabetes y puntuación SOFA, solo la relación con sFLT-1 se mantuvo significativa ($r = -0,04$, $p = 0,01$).

Biomarcador	StO ₂ inicial		Descenso de StO ₂		Recuperación de StO ₂	
	r	p	r	p	r	p
PAI-1	-0,01	0,1	0	0,95	-0,06	0,0001
sFLT-1	0	0,35	0	0,77	-0,08	0,0001
sE-Selectina	0,35	0,8	-0,01	0,21	-0,02	0,09
sVCAM-1	0	0,84	0	0,54	-0,02	0,06
ICAM-1	0	0,66	0	0,21	0,01	0,73
IL-6	0	0,65	-0,01	0,48	-0,17	0,0001

Tabla 10 Relación lineal no ajustada para mediciones NIRS predicción de biomarcadores de activación endotelial. Traducido de Time-course of sFlt-1 and VEGF-A release in neutropenic patients with sepsis and septic shock: A prospective study (158).

5.1.1.6 Schuetz P, et al. Endothelial cell activation in emergency department patients with sepsis-related and non-sepsis-related hypotension. Shock. 2011;36:104–8 (156).

Se analizaron un total de 161 pacientes con hipotensión tomando muestras a la llegada a urgencias generalmente dentro de las primeras tres horas tras su ingreso. 69 pacientes (43%) tenían sepsis como causa de su hipotensión, 47 pacientes (29%) tenían hipotensión no séptica, de los cuales 35 sufrían de enfermedades cardíacas y 12 de hemorragias y 45 pacientes (28%) presentaban hipotensión de causa no filiada. La mortalidad hospitalaria global fue del 8.6%, siendo la sepsis la causa predominante en la mayoría de los fallecimientos.

Los resultados fueron contundentes: los niveles plasmáticos de E-selectina, ICAM-1, VCAM-1, VEGF y sFLT-1 fueron significativamente más altos en pacientes con sepsis en comparación con aquellos con hipotensión no séptica. El único biomarcador que no mostró diferencias significativas fue PAI-1. Tras realizar el ajuste por edad, sexo y severidad de la hipotensión sólo E-selectina (OR 3,7, $p < 0,001$) y FLT-1 (OR 2,0, $p = 0,03$) resultaron significativos.

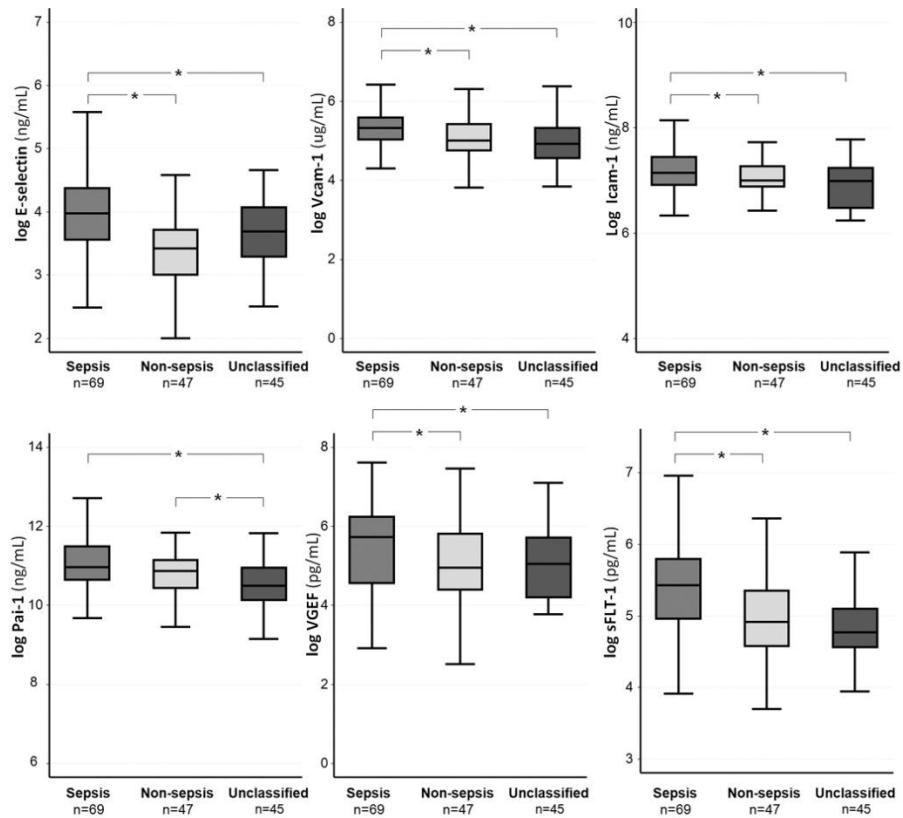


Figura 11 Diagrama de caja que muestran los niveles de marcadores endoteliales en pacientes con no sepsis (gris), sepsis (gris claro) e hipotensión no clasificada (negro) (156).

5.1.1.7 Day DE, et al. The Utility of Inflammatory and Endothelial Markers to Identify Infection in Emergency Department Patients. Shock. 2015;44:215–20 (156).

Se analizaron 115 pacientes, de los cuales 49 (43%) fueron diagnosticados con una infección frente a 66 (57%) controles sanos. De la historia de los pacientes la fiebre, la disnea y la tos se asociaron a infección. Así como los biomarcadores sE-selectina, ICAM-1, PAI-1, IL-6 sFLT-1 y PCT fueron significativamente mayores. Para la predicción de infección se realizaron tres modelos clínicos. (a) reporte de fiebre en la historia (OR = 4,45, p =0,014) y la temperatura medida (OR = 1,55, p =0,014). (b) Logaritmo de E-selectina (OR = 11, p =0,014) e IL-6 (OR = 5,2, p = 0.001). (c) Uso combinado de biomarcadores y clínica que mejoró la clasificación de los pacientes, demostrado por el IDI de 0,11 y el IDI relativo de 0,53, que supera el umbral de 0,5 que sugiere importancia.

			IC 95%	
	p	OR	Bajo	Alto
Fiebre reportada	0,014	4,466	1,34	14,7
Inicio temperatura	0,014	1,553	1,09	2,2

Tabla 11 Regresión logística multivariante para la predicción de la sepsis según variables clínicas. Traducido de *The Utility of Inflammatory and Endothelial Markers to Identify Infection in Emergency Department Patients* (159).

			IC 95%	
	p	OR	Bajo	Alto
Log_e-selectina	0,0014	11	1,6	73,6
Log_IL-6	0,001	5,2	2,3	11,6

Tabla 12 Regresión logística multivariante para la predicción de la sepsis según biomarcadores clínicas (156).

Modelo	AUC	IC 95%	p	IDI	p	IC 95%	IDI relativo
Combinado	0,88	0,81-0,94	<0,001	0,21	<0,001	0,13-0,20	0,99
Biomarcador	0,82	0,75-0,90	<0,001	0,11	<0,047	0,001-0,22	0,53
Clínica	0,76	0,67-0,85	<0,001			Modelo referencia	

Tabla 13 Regresión logística multivariante para la predicción de la sepsis mediante el uso combinado de variables clínicas y biomarcadores (156).

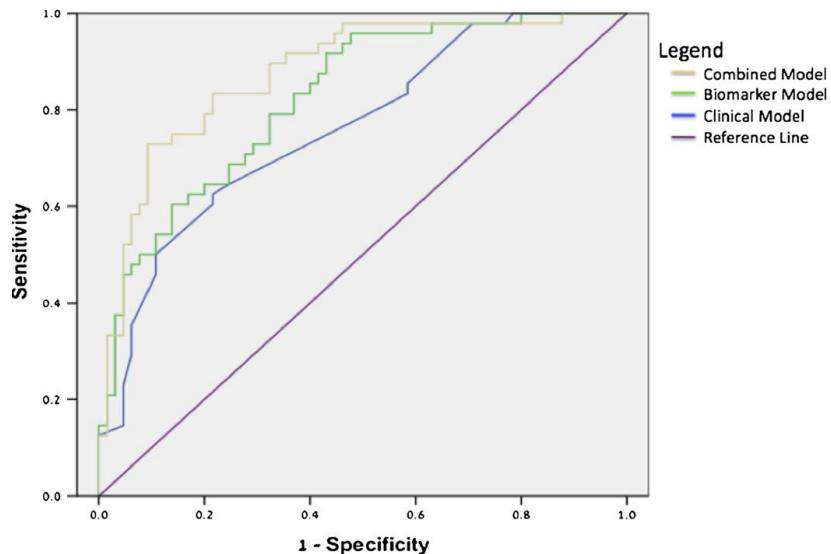


Figura 17 AUC comparando clínica, biomarcadores y uso combinado de ambas en relación con la predicción de infección (156).

5.1.1.8 Hou PC et al., Process Investigators. Endothelial Permeability and Hemostasis in Septic Shock: Results from the Process Trial. *Chest*. 2017;152:22–31 (162).

Se incluyeron 605 sujetos, con muestras de sangre extraídas en múltiples momentos (inicial, 6 y 24 h), y el grupo de validación, con 305 pacientes, con solo una extracción de sangre inicial. El primer objetivo fue estudiar si diferentes estrategias de reanimación (guiada por objetivos vs. tratamiento habitual) alteraron los perfiles de biomarcadores durante las primeras 24 h de atención, en el que no se demostraron diferencias en cuanto a biomarcadores de permeabilidad vascular (sFLT-1, VEGF, Ang-2) ni de hemostasia (vWF, tPA, TM).

Biomarcador	Tiempo	n	Por objetivos mediana (IQR)	n	Medidas no invasivas mediana (IQR)	n	Cuidados habituales mediana (IQR)	p
sFLT-1	Basal	190	342 (163-615)	211	256 (151-578)	205	275 (140-559)	0,32
	6 h	190	320 (172-525)	197	261 (142-520)	184	260 (122-525)	0,85
	24 h	176	270 (127-525)	200	280 (133-510)	199	243 (126-532)	0,52
VEGF	Basal	190	97,5 (28,2-184)	201	92,0 (21,3-198)	199	94,4 (26,5-158)	0,09
	6 h	190	91,7 (22,2-141)	217	72,0 (21,3-198)	209	82,6 (17,0-191)	0,26
	24 h	176	73,7 (28,2-148)	199	70,5 (23,1-190)	184	85,6 (43,0-181)	0,78
Ang-2	Basal	186	8,744 (3,111-15,914)	217	7,045 (3,541-15,165)	209	9,154 (4,390-21,529)	0,56
	6 h	186	7,821 (4,352-11,509)	209	7,654 (3,330-11,453)	207	8,514 (4,302-15,492)	0,32
	24 h	176	6,856 (4,030-12,569)	197	8,706 (4,980-16,073)	195	9,050 (4,703-21,512)	0,2
vWF	Basal	190	3,920 (2,075-5,369)	209	2,975 (1,495-4,680)	209	3,950 (2,067-5,495)	0,22
	6 h	190	3,376 (2,253-4,594)	217	2,941 (1,929-4,464)	205	3,590 (2,064-4,935)	0,2
	24 h	176	3,226 (2,074-4,656)	201	2,807 (1,373-4,098)	199	3,640 (2,064-5,376)	0,07
tPA	Basal	190	1,3 (0,9-2,9)	201	1,4 (1,1-2,8)	206	1,2 (1,1-2,6)	0,98
	6 h	190	1,3 (0,9-2,9)	197	1,4 (1,1-2,9)	194	1,2 (1,1-2,9)	0,15
	24 h	176	1,3 (0,9-2,9)	197	1,4 (1,1-2,8)	205	1,2 (1,1-2,6)	0,55
TM	Basal	190	5,1 (3,3-7,5)	211	4,6 (3,3-7,4)	205	4,8 (3,3-7,7)	0,46
	6 h	190	5,2 (3,6-7,7)	205	4,9 (3,7-9,6)	184	5,0 (3,6-7,7)	0,37
	24 h	176	5,6 (3,6-7,7)	197	4,9 (3,7-9,6)	197	5,5 (3,6-7,6)	0,47

Tabla 14 Perfiles de biomarcadores por grupo de tratamiento. Traducido de Hou PC et al., Process Investigators. Endothelial Permeability and Hemostasis in Septic Shock: Results from the Process Trial. *Chest*. 2017;152:22–31 (162).

Autor	Año	Diseño	Pacientes	Hallazgos
Brunna Alves (157)	E 2011	Estudio cohortes prospectivo	41 pacientes con fiebre neutropénica. Shock séptico (n=31) vs sepsis (n=10) en UCI.	En el momento del inicio de la fiebre no hay diferencias estadísticas significativas entre niveles de sFlt-1 y VEGF-A. Sin embargo, después de 48 horas, los niveles de VEGF-A y sFlt-1 fueron mayores de forma estadísticamente significativa en shock séptico.
P. Schuetz (158)	2011	Casos controles prospectivo y	207 pacientes. Sépticos (n=70), sepsis severa n=66), shock séptico (n=71), en pacientes diabéticos (n=63) frente no diabéticos (n=144) en UCI	Pacientes con diabetes presentan niveles mayores de E-selectina y sFLT-1, así como si se compara la sepsis vs shock séptico. ICAM-1, VCAM y PAI-1, no fueron en ningún caso significativos.
Simon Skibsted (159)	2013	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	166 pacientes con sepsis (n= 63), sepsis grave (n=61) y shock séptico (n=42) en UCI	sFlt-1, E-selectina, sVCAM-1, PAI-1 y sICAM-1 se correlacionó con la escala SOFA, IL-6 y la escala APACHE II salvo sICAM-1.
Maiara Marx Luz Fiusa (160)	2013	Estudio cohortes prospectivo	99 pacientes fiebre neutropénica. Shock séptico (n=20), no complicados (n=79) en UCI	Los niveles de VEGF-A y sFlt-1 fueron similares entre pacientes en shock séptico vs. Sepsis no complicada. La concentración de Ang-2 aumentó en pacientes con shock séptico. Sin embargo, niveles de VEGF-A y sFlt-1 fueron similares.
Simon Skibsted (161)	2013	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	186 pacientes con en urgencias con sepsis (n=64), shock séptico (n=61) y controles no infectados (n=61).	El uso de la técnica (NIRS) no presenta correlación con ninguno de los biomarcadores analizados en el subgrupo de sepsis.
Philipp Schuetz (156)	2014	Estudio cohortes prospectivo	161 pacientes hipotensos en urgencias. Sepsis (n=69), no sepsis (n=92).	sFLT-1, E-selectina, ICAM-1 y VEGF fueron estadísticamente significativos para el diagnóstico diferencial del shock séptico vs otras causas de shock.
Danielle E. Day (163)	2015	Estudio cohortes prospectivo	115 pacientes hipotensos en urgencias. Sepsis (n=49), no sepsis (n=66).	Aumento significativo en sepsis de sFLT-1, e-selectina, sICAM-1, PAI-1, IL-6 y procalcitonina. El uso de biomarcadores aumento el AUC para el diagnóstico diferencial de sepsis vs el uso exclusivo de la clínica.
Peter C. Hou (164)	2017	Ensayo clínico multicéntrico	605 pacientes en shock séptico en urgencias	La resucitación guiada por objetivos no demostró diferencias en los biomarcadores frente a la terapia estándar de resucitación.

Tabla 15 sFLT-1 como biomarcador de predicción de gravedad (154)

1.1.1 sFLT-1 como biomarcador de mortalidad

- 5.1.1.9 Skibsted S, et al. Biomarkers of endothelial cell activation in early sepsis. *Shock*. 2013;39:427–32 (159).

Además de los resultados antes presentados en este estudio se destaca la capacidad de sFlt-1 y PAI-1 en cuanto a la predicción de mortalidad hospitalaria (AUC = 0.87).

Biomarker	AUC	95% CI
sFLT-1	0.87	0.79–0.95
PAI-1	0.87	0.78–0.95
sE-selectin	0.77	0.69–0.85
ICAM	0.71	0.60–0.81
sVCAM-1	0.78	0.68–0.89
IL-6	0.80	0.69–0.91

Tabla 14 Área bajo la curva en la que se predice la mortalidad hospitalaria ajustada a comorbilidades (156).

- 5.1.1.10 Fiusa MML, et al. A high angiopoietin-2/angiopoietin-1 ratio is associated with a high risk of septic shock in patients with febrile neutropenia. *Crit Care*. 2013;17:1–10 (160).

El riesgo relativo de mortalidad relacionada con la sepsis para los pacientes con niveles de Ang-2/Ang-1 por encima del punto de corte de 5,0 fue de 5,8 (IC del 95%: 1,96 a 17,59; p = 0,001) y 2,74 (95% de confianza intervalo, de 1,054 a 7,160; p = 0,03) para Ang-2/Ang-1 niveles por encima de la mediana. Las curvas de Kaplan-Meier mostraron una clara divergencia de estimaciones de supervivencia entre pacientes con Ang-2/Ang-1 relaciones por encima o por debajo de la mediana o de los valores de corte.

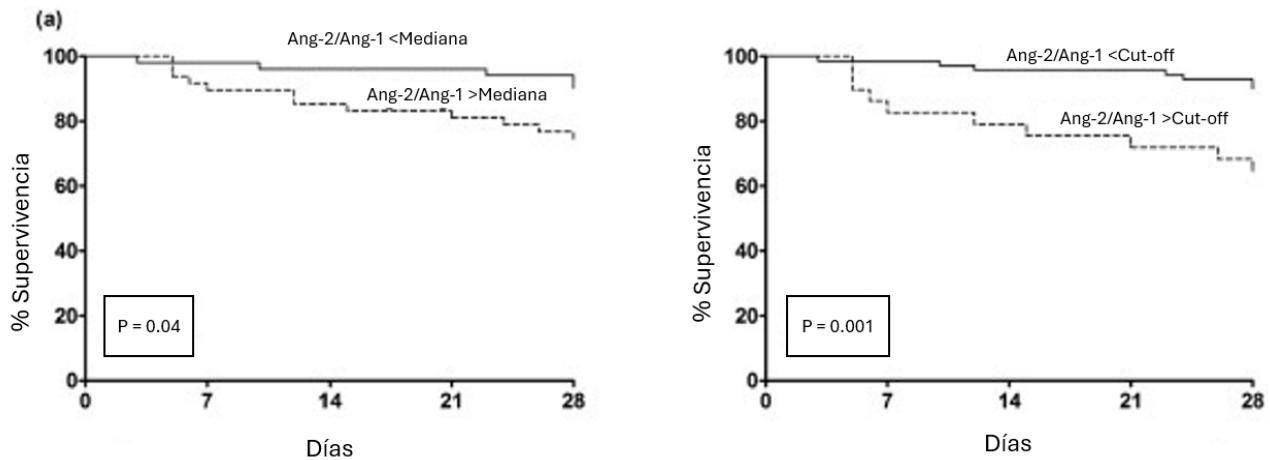


Figure 18 Estimaciones de Kaplan-Meier de la supervivencia a los 28 días en pacientes con neutropenia febril según la relación Ang-2/Ang-1. Traducido de Fiusa MML, et al. A high angiopoietin-2/angiopoietin-1 ratio is associated with a high risk of septic shock in patients with febrile neutropenia (160)

5.1.1.11 Hou PC et al., Process Investigators. Endothelial Permeability and Hemostasis in Septic Shock: Results from the Process Trial. *Chest*. 2017;152:22–31 (162).

Los biomarcadores de alteración vascular se relacionaron con la mortalidad en función de la estrategia de resuscitación empleada. Y es que basalmente se relacionó el aumento de sFLT-1 663 (307-1064; $p < 0,001$) y Ang -2 12,85 (6,8-28,135; $p < 0,003$) así como la disminución de VEGF 78,5 (2,3-166,1; $p < 0,002$) con aumento en la tasa de defunciones.

En el análisis a las 24 horas de ingreso dichos datos fueron refrendados con el aumento de sFLT-1 1 684 (299-1,198; $p < 0,001$) y Ang -2 22,517 (9,832-45,63; $p < 0,0001$) así como la disminución de VEGF 32,1 (0-122,1; $p < 0,003$).

Autor	Año	Diseño	Pacientes	Hallazgos
Simon Skibsted (159)	2013	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	166 pacientes con sepsis (n= 63), sepsis grave (n=61) y shock séptico (n=42) en UCI.	Los biomarcadores sFLT-1, sE-selectin, ICAM y sVCAM-1 se demuestran predictores de mortalidad intrahospitalaria.
Maiara Marx Luz Fiusa (160)	2013	Estudio cohortes prospectivo	99 pacientes fiebre neutropénica. Shock séptico (n=20), no complicados (n=79) en UCI	El cociente Ang-2/Ang-1 se presenta como biomarcador de aumento del riesgo de fallecer a los 28 días.
Peter C. Hou (164)	2017	Ensayo clínico multicéntrico	605 pacientes en shock séptico en urgencias	Los biomarcadores basales y a las 24 horas mostraron ser predictores de mortalidad

Tabla 15 sFLT-1 como biomarcador de mortalidad (154).

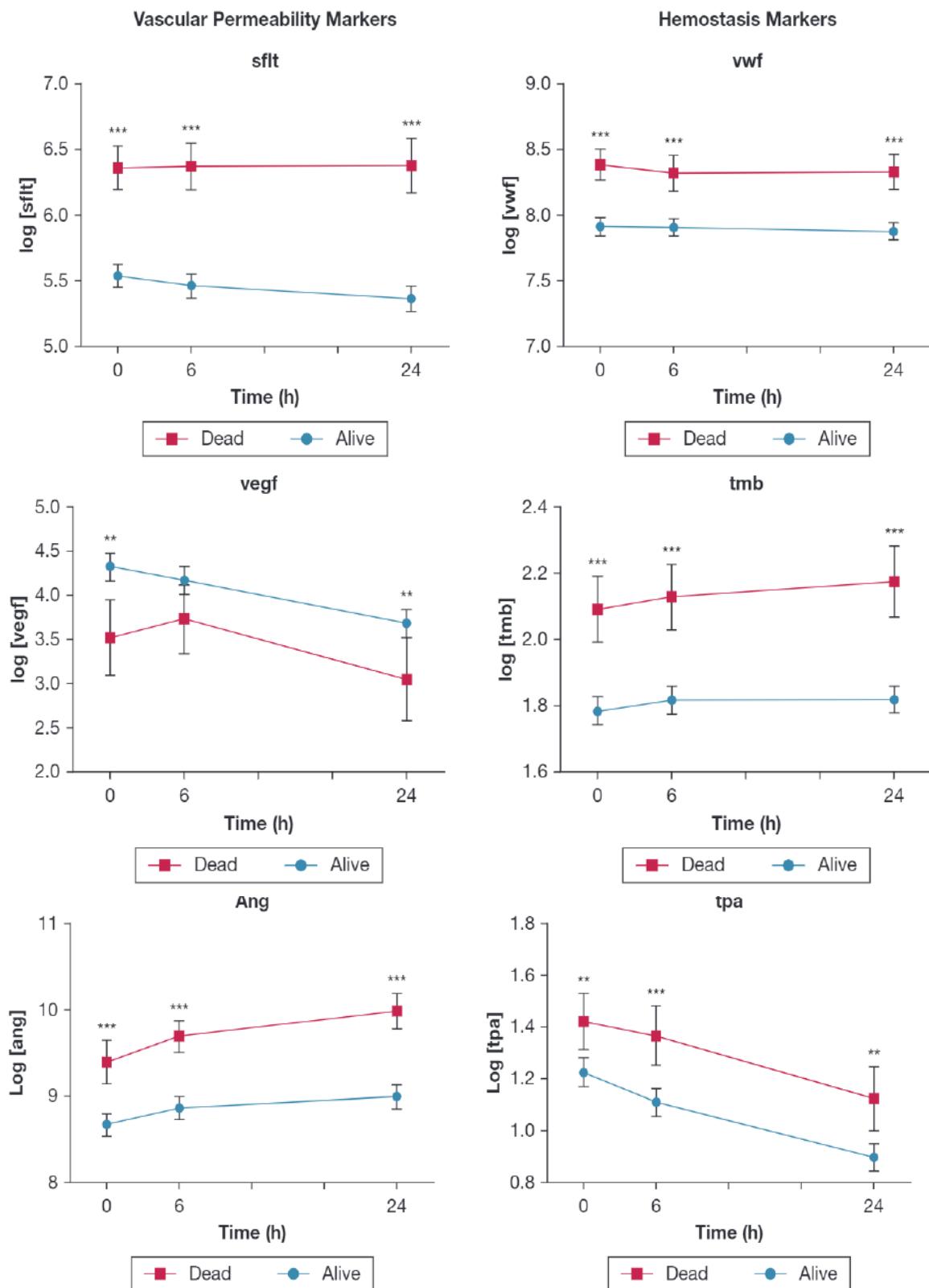


Figura 13 Predicción de mortalidad hospitalaria a los 60 días según Niveles medios de biomarcadores logarítmicos (162).

5.1.2 sFLT-1 como biomarcador en SARS-CoV-2

5.1.2.1 Greco M, et al sFlt-1 and CA 15.3 are indicators of endothelial damage and pulmonary fibrosis in SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep.* 2021;11:1–9 (165).

El estudio incluyó a 262 pacientes hospitalizados con neumonía por COVID-19. De estos, 227 sobrevivieron y 35 fallecieron durante la hospitalización. Como grupo de control, se incluyeron 101 individuos sanos. Se encontró una asociación significativa entre los niveles elevados de sFlt-1 y la gravedad de la enfermedad 90,3 pg/mL (AUC 0,902, $p < 0,001$, sensibilidad 83,9%, especificidad 86,7%). Se demostró además que los niveles de sFlt-1 eran significativamente mayores en aquellos con desenlace fatal.

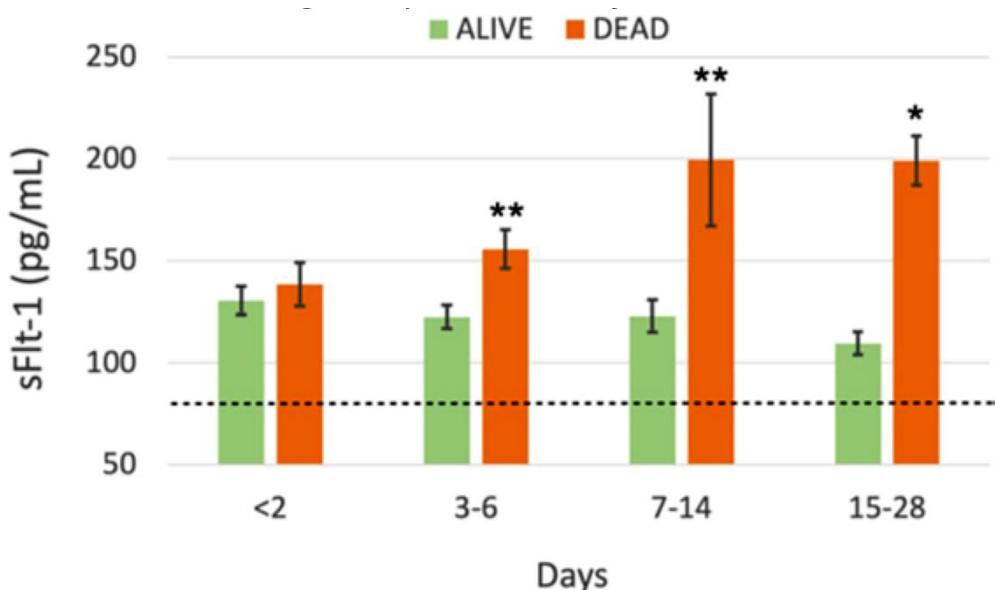


Figura 19 Predicción de mortalidad según niveles de sFLT-1. La línea punteada indica el nivel de sFlt-1 observado en los controles ($78,9 \pm 2,5$ pg/mL). Los asteriscos indican diferencia estadísticamente significativa: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ (165).

Los pacientes ingresados en la UCI presentaron un aumento del 40% en Antígeno Carbohidrato 15.3 (CA 15.3) en comparación con los hospitalizados en otras unidades ($42,6 \pm 3,3$ U/mL vs. $25,7 \pm 1,5$ U/mL, $p < 0,0001$). AUC de 0,958 con un umbral $>24,8$ U/mL para diferenciar fibrosis severa (sensibilidad 88,4%, especificidad 91,8%).

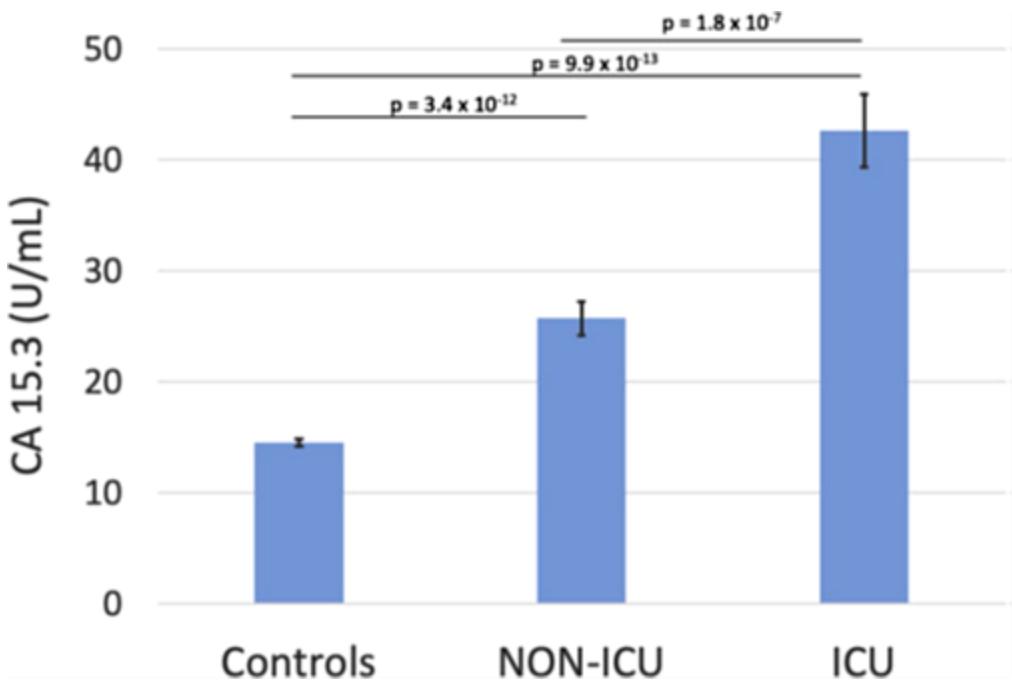


Figura 20 Niveles séricos de CA 15,3 en pacientes infectados por SARS-CoV-2, divididos según su hospitalización en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) u otros en diferentes salas (NO UCI), y pacientes control (165).

5.1.2.2 Espino-y-Sosa S et al. Novel Ratio Soluble Fmslike Tyrosine Kinase-1/Angiotensin-II (sFlt-1/ANG-II) in Pregnant Women Is Associated with Critical Illness in COVID-19. *Viruses*. 2021;13:1906 (166).

Se recogieron muestras al ingreso de 80 mujeres embarazadas con COVID-19. De ellas, 25 (31,25%) desarrollaron COVID-19 severo y 2 (2,5%) fallecieron. La razón sFlt-1/ANG-II estuvo significativamente asociada con neumonía severa (OR: 1,31; p=0,003), ingreso a UCI (OR: 1,05; p=0,007), intubación (OR: 1,09; p=0,008), sepsis viral (OR: 1,04; p=0,008) y mortalidad materna (OR: 1,04; p=0,018). La tasa de detección de verdaderos positivos al 5% fue del 52% mientras la de falsos positivos al 10% fue del 88% en relación con la predicción de neumonía grave.

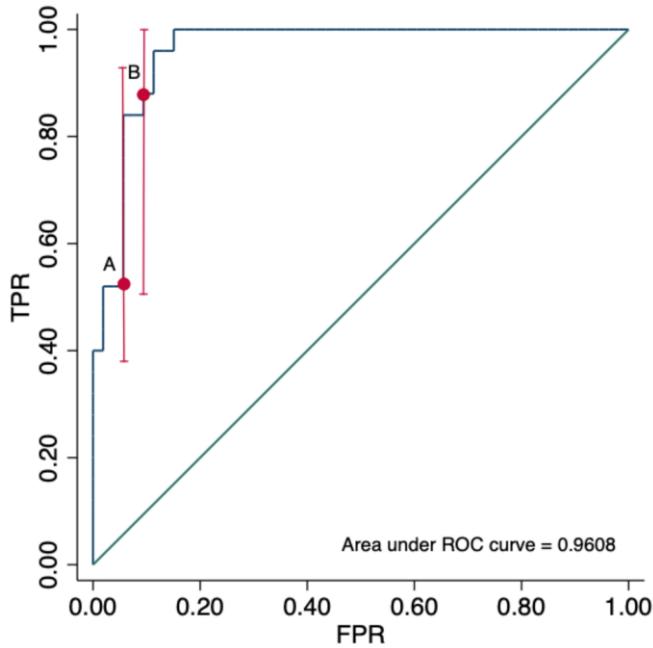


Figura 21 Área bajo la curva ROC de la razón sFlt-1/ANG-II para la predicción de neumonía grave por COVID-19 (166).

Se observó una correlación negativa entre los niveles de ANG-II y la gravedad del COVID-19, mientras que los niveles de sFlt-1 fueron significativamente más altos en las pacientes con enfermedad severa.

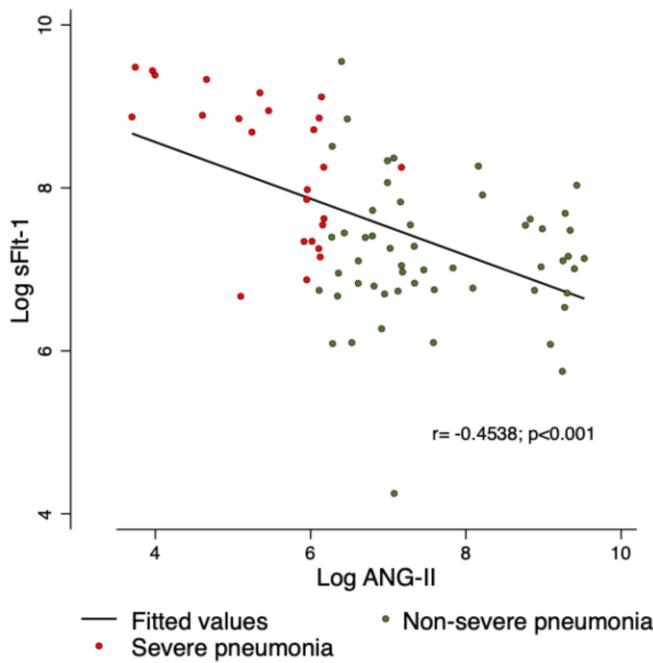


Figura 22 Relación entre sFlt-1 y ANG-II (166).

5.1.2.3 Torres-Torres J et al. Increased levels of soluble fms-like tyrosine kinase-1 are associated with adverse outcome in pregnant women with COVID-19. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022;59:202–8 (167).

Se analizaron 113 mujeres embarazadas con COVID-19, de las cuales: 31 (27.43%), desarrollaron neumonía grave, 18 (15.9%) requirieron ingreso en la UCI, 6 (5.3%) presentaron sepsis viral y 5 (4.42%) fallecieron. En cuanto al papel de sFLT-1 se descubrió su relación en cuanto al desarrollo de complicaciones como neumonía grave (OR ajustado: 1.817, $p < 0.0001$), ingreso a UCI (OR ajustado: 2.195, $p < 0.0001$), sepsis viral (OR ajustado: 2.318, $p < 0.001$), muerte materna (OR no ajustado: 5.504, $p = 0.040$).

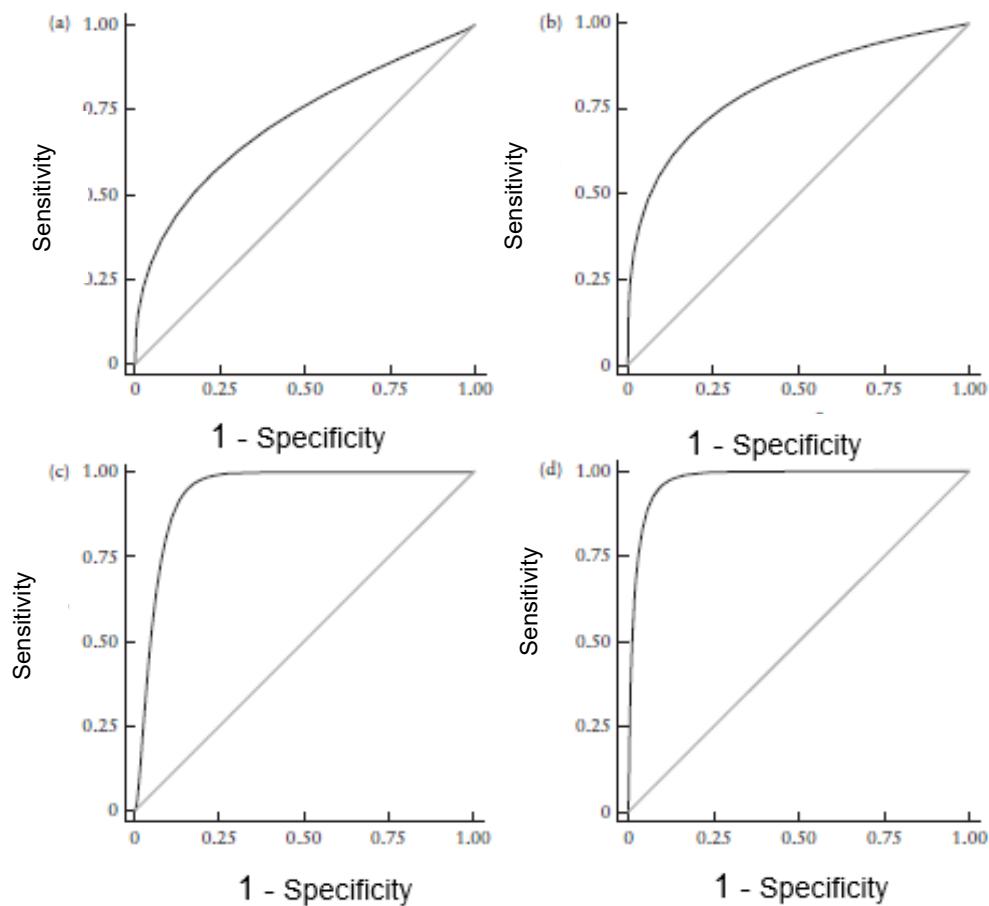


Figura 18 Áreas ROC de relación de niveles de sFLT-1 en: (a) predicción de neumonía grave (AUC: 0.7153), (b) ingreso en UCI (AUC: 0.8157), (c) sepsis viral (AUC: 0.9393) y (d) y muerte materna (AUC: 0.9762) (167).

Autor	Año	Diseño	Pacientes	Hallazgos
Marilena Greco (165)	2021	Estudio cohortes prospectivo	262 pacientes hospitalizados por neumonía COVID vs 101 controles sanos.	Niveles séricos de sFlt-1 resultaron significativos para el diagnóstico neumonía COVID-19 vs sujetos sanos, así como la estratificación de la gravedad del cuadro. En cuanto a CA 15.3 resultó significativo para predicción de fibrosis pulmonar.
Salvador Espino-y-Sosa (166)	2021	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	80 mujeres embarazadas COVID positivas. COVID severo (n=25) y no severo (n=55) en urgencias.	Se describe un aumento de sFLT-1 y del cociente sFLT1/ ANG -II como predictores de gravedad, así como de complicaciones.
J. Torres- Torres(167)	2022	Estudio cohortes prospectivo	113 embarazadas COVID +. Covid no severo (n=82), COVID severo (n=31) en urgencias.	Los niveles de sFlt-1 se asociaron con gravedad de enfermedad, así como aumento de complicaciones.

Tabla 16 sFLT-1 como biomarcador diagnóstico y de gravedad en neumonía por SARS-CoV-2 (154).

5.2 Resultados del estudio clínico

5.2.1 Características de los pacientes

Se llevo a cabo un estudio de cohortes retrospectivo. Inicialmente se dividieron en dos grupos: No infección N=94 (50,26%) e infección N=93 (49,73).

El grupo que carecía de infección estaba compuesto a su vez por controles n=49 (52,12), SIRS n=12 (12,76) y shock de causa no séptica n=33 (35,1). Este grupo se divide en 62 hombres frente a 32 mujeres. En cuanto a las escalas de gravedad se describieron valores (media (sd)) de APACHE II [12,26 (0,512)] y SOFA [5,01 (0,30)].

Por otro lado, el grupo de infección se dividía en sepsis n=45 (48,38) y shock séptico n=48 (51,61). Este grupo se divide en 53 hombres frente a 40 mujeres. En cuanto a las escalas de gravedad se describieron valores (media (sd)) de APACHE II [14,59 (0,42)] y SOFA [5,22 (0,27)] (Tabla 17).

	No infección (n=93)					Infección (n=94)			
		Proporción	Media	Desviación estándar		Proporción	Media	Desviación estándar	
Paciente	Edad		70,96 (1,302)	12,56			69,02 (1,210)	11,73	
	Categorías clínicas	Control (n=49)	26,2		Sepsis (n=45)	13,37			
		SIRS (n=12)	6,42		Shock séptico (n=48)	25,67			
		Shock no séptico (n=33)	0,18						
	Sexo	62-32					53-40		
	APACHE II		12,26 (0,51)	4,8			14,59 (0,42)	6,33	
	SOFA		5,01 (0,30)	2,88			5,22 (0,27)	2,6	

Tabla 17 Características basales de los pacientes

5.2.2 Análisis de biomarcadores y establecimiento de Clústers

Para el análisis de los biomarcadores se empleó la técnica Luminex Flow Luminescence Immunoassay (FLIA). Para ello se tuvieron que emplear dos KIT independientes. El primero analizaba los biomarcadores SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1 y ICAM2, mientras el segundo estudiaba VEGFR-1.

- N = 155 pacientes (a partir de ahora Clúster 0)
- N = 32 pacientes (a partir de ahora Clúster 1)

En cuanto a la división tras aplicar los criterios de Clúster cabe destacar que se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de Angpt-1 [0,73 (0,54) vs. 0,12 (0,21), valor p < 0,0001], Angpt-2 [139,52 (33,59) vs. 58,80 (41,02), valor p < 0,0001], y VEGFR-1 [158,25 (287,11) vs. 58,76 (79,04), valor p < 0,0001] entre los dos clústeres (Tabla 18 y figura 24).

Biomarcadores	Clúster 0 (N=155)	Clúster 1 (N=32)	Valor p
Angpt-1 (pg/mL)	0,12 (0,21)	0.73 (0,54)	<0,001
Angpt-2 (pg/mL)	58,80 (41,02)	139.52 (33,59)	<0,001
VEGFR-1 (pg/mL)	58,76 (79,04)	158.25 (287,11)	<0,001

Tabla 18 Valores de Angpt-1, Angpt-2 y VEGFR-1 para los dos subgrupos de pacientes. Los valores se expresan como mediana y rango intercuartílico.

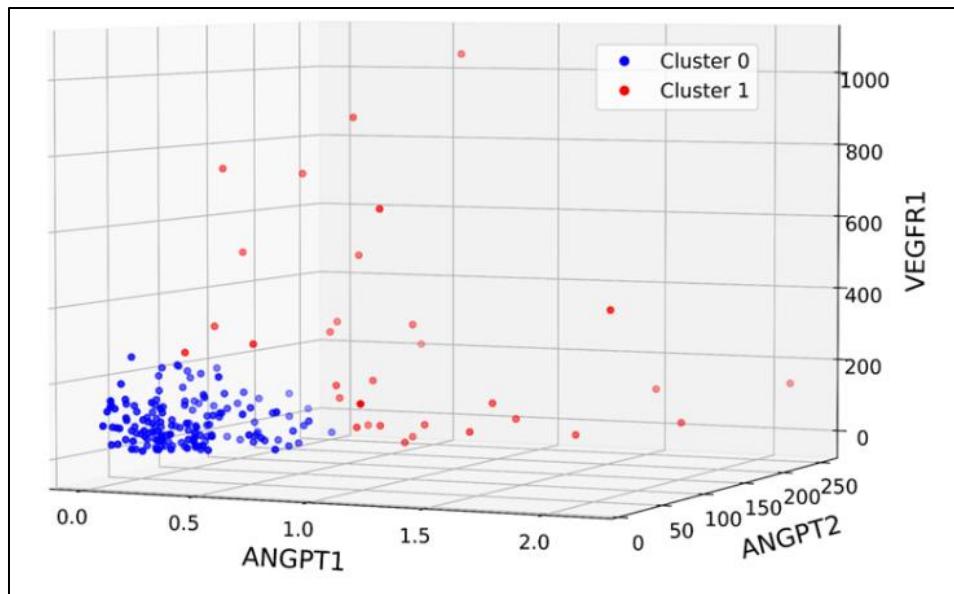


Figura 24 Representación tridimensional de los pacientes (los puntos azules representan a los pacientes del Clúster 0, mientras que los puntos rojos representan a los pacientes del Clúster 1).

Para completar, la Figura 25 proporciona diagramas de caja de cada biomarcador estratificado por clúster, mientras que la Figura 26 ilustra diagramas de dispersión que muestran la distribución por pares de biomarcadores en los grupos.

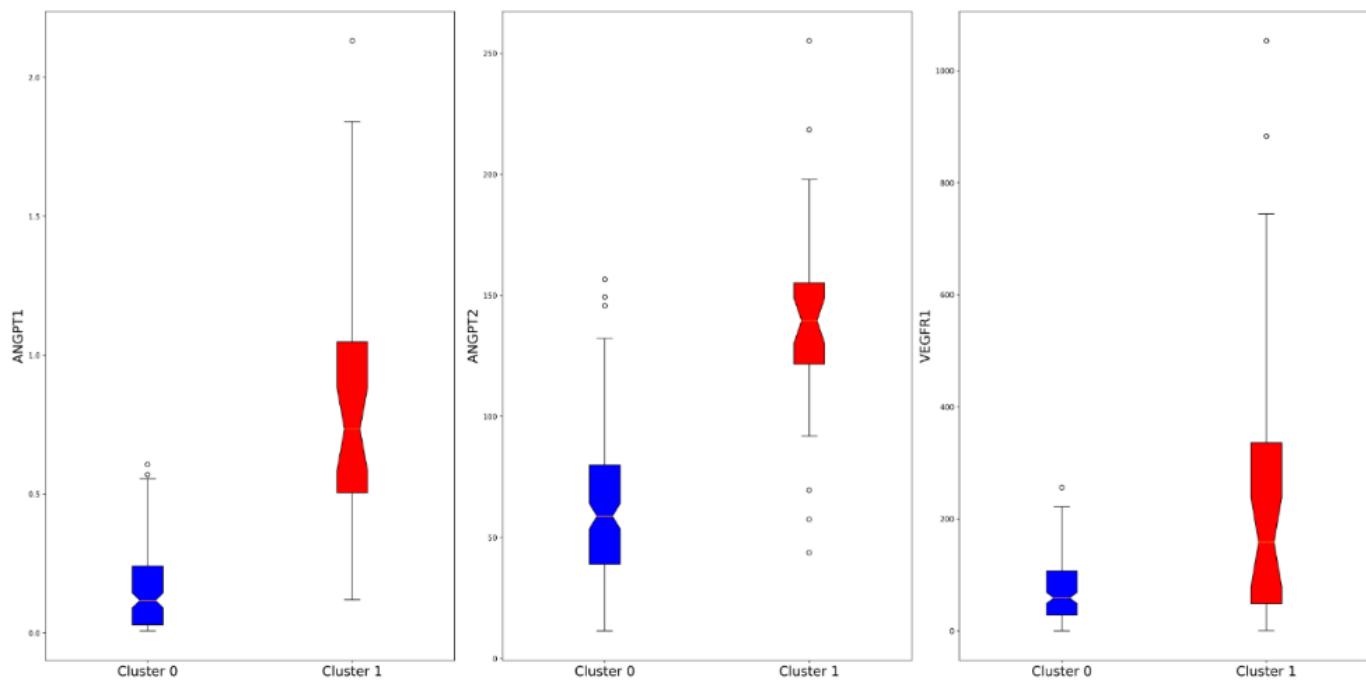


Figura 25 Diagramas de caja de cada biomarcador estratificados por clúster.

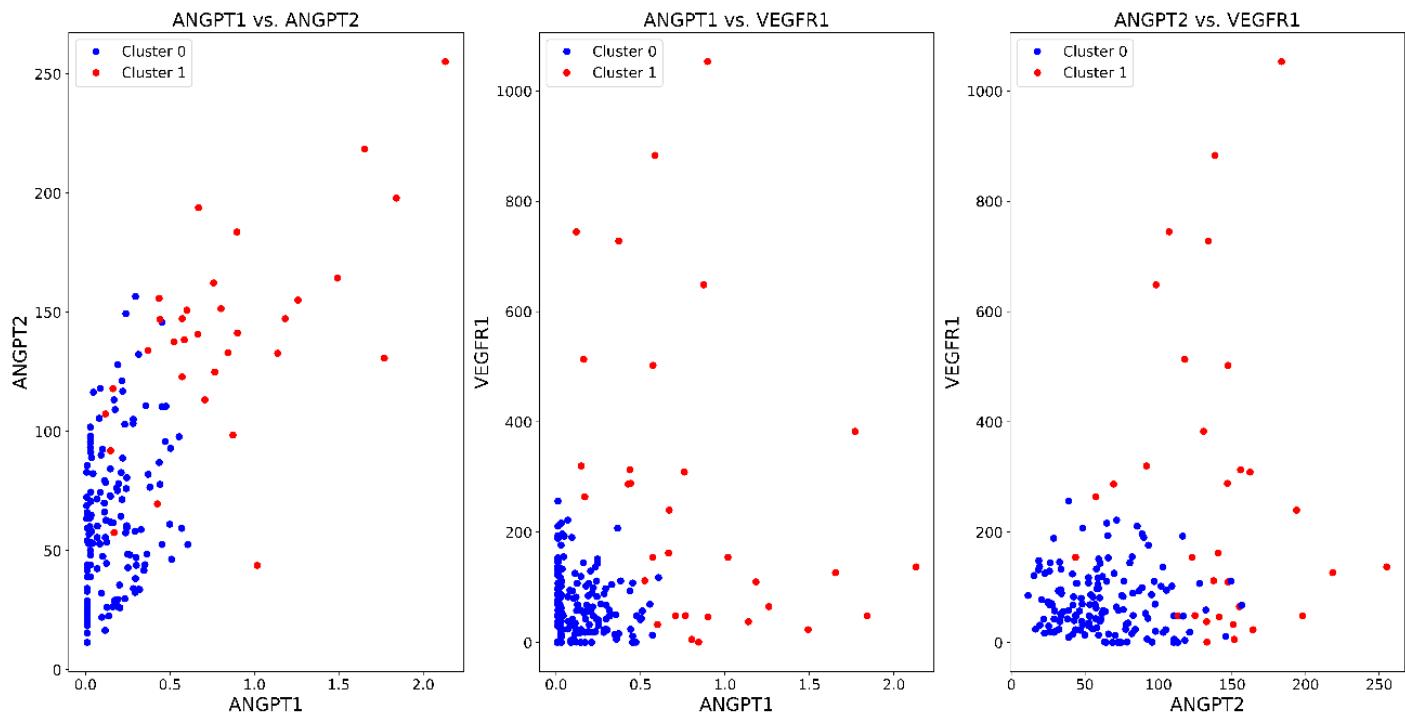


Figura 26 Diagramas de dispersión comparando la distribución de los biomarcadores Angpt-1, Angpt-2 y VEGFR-1 en cada conglomerado por pares.

5.2.3 Características de los pacientes según los Clústers

En la Tabla 19 se muestran las características demográficas y clínicas basales de los pacientes en cada clúster. Cabe destacar que las características demográficas (edad, sexo e IMC) no difirieron entre el Clúster 0 y el Clúster 1 (valor $p > 0,05$).

Por otro lado, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos según su perfil clínico (valor $p = 0,003$), siendo mayor la proporción de pacientes control en el Clúster 0 (48/155 vs. 1/32, valor $p = 0,002$) y mayor la proporción de pacientes con shock séptico en el Clúster 1 (33/155 vs. 15/32, valor $p = 0,003$).

En cuanto a los antecedentes personales, los pacientes del Clúster 1 presentaban mayor prevalencia de ictus (5,8% vs. 18,8%, valor $p = 0,036$) y enfermedad renal crónica (7,7% vs. 21,9%, valor $p = 0,037$).

Respecto de predictores de mortalidad, se mostraron cifras más elevadas en el Clúster 1 en cuanto al APACHE (12,0 (8,5) vs. 17,5 (10,3), valor $p = 0,015$) y SOFA (4,0 (3,0) vs. 7,0 (3,3), valor $p < 0,001$).

Características	N	Clúster 0 (N=155)	Clúster 1 (N=32)	Valor p
Demografía				
Edad (años, mediana (IQR))	187	72 (16)	73 (16,5)	0,994
Hombres (n (%))	187	96 (61,9%)	19 (59,4%)	0,943
IMC (kg/m2, mediana (IQR))	187	26,4 (4,4)	25,9 (4,7)	0,587
Comorbilidades (n (%))				
Tabaquismo	187	21 (13,5%)	4 (12,5%)	1
Enfermedad coronaria	187	27 (17,4%)	4 (12,5%)	0,674
Cardiopatía valvular	187	35 (22,6%)	3 (9,4%)	0,147
Fibrilación auricular	187	28 (18,1%)	6 (18,8%)	1
Ictus	187	9 (5,8%)	6 (18,8%)	0,036
Hipertensión arterial	187	68 (43,9%)	8 (25%)	0,075
Obesidad	187	25 (16,1%)	8 (25%)	0,345
EPOC	187	9 (5,8%)	4 (12,5%)	0,330
CPAP	187	5 (3,2%)	0 (0,0%)	0,669
Enfermedad renal crónica	187	12 (7,7%)	7 (21,9%)	0,037
Inmunosupresión	187	4 (2,6%)	1 (3,1%)	1
Perfil clínico				
Categoría Clínica (Shock séptico, Sepsis, Shock no séptico, SIRS, Control)	187	33/39/26/9/4 8	15/6/7/3/1	0,003
Escalas (mediana (IQR))				
APACHE	187	12 (8,5)	17,5 (10,3)	0,015
SOFÁ	187	4 (3,0)	7,0 (3,3)	<0,001

Tabla 19 Características demográficas y clínicas de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1.

En cuanto a las características quirúrgicas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los conglomerados (Tabla 20).

Características	N	Clúster 0 (N=155)	Clúster 1 (N=32)	Valor p
Quirófano. Mediana (IQR)				
Duración de la cirugía	187	180 (132,5)	165(187,5)	0,898
Fluidoterapia	187	1500 (1000)	1600 (1500)	0,082
Tipo de cirugía. N. (%)				
Digestivo	187	66 (42,6%)	15 (46,9%)	0,802
Vascular	187	9 (1,7%)	4 (12,5%)	0,330
Traumatología	187	2 (1,3%)	0 (0,0%)	1
Torácica	187	7 (4,5%)	1 (3,1%)	1
Otorrinolaringología	187	0 (0,0%)	1 (3,1%)	0,381
Urología	187	6 (3,2%)	1 (3,1%)	1
Ginecología	187	1 (0,6%)	0 (0,0%)	1
Cirugía cardiaca	187	32 (10,9%)	3 (9,4%)	0,215

Tabla 20 Características quirúrgicas de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1

5.2.4 Características postquirúrgicas de los pacientes

A nivel analítico se pudo demostrar en la Tabla 21 como los pacientes del Clúster 1 presentaban valores más elevados de procalcitonina (1,0 (3,4) vs. 4,8 (15,2), valor $p = 0,002$), lactato (1,8 (1,2) vs. 2,5 (2,2), valor $p = 0,001$) y creatinina (1,0 (0,8) vs. 1,5 (1,3), valor $p < 0,001$). En cuanto a la estancia hospitalaria y la mortalidad las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Características	N	Clúster 0 (N=155)	Clúster 1 (N=32)	Valor p
Analítica (IQR)				
Glucosa en sangre	187	158,0 (51,5)	158,5 (60,0)	0,320
Neutrófilos	187	86,7 (9,3)	88,8 (6,7)	0,216
Procalcitonina	138	1,0 (3,4)	4,8 (15,2)	0,002
PCR	186	89,0 (117,1)	134,2 (183,2)	0,123
Lactato	187	1,8 (1,2)	2,5 (2,2)	0,001
Hematocrito	187	30,8 (7,0)	30,9 (9,3)	0,940
Creatinina	178	1,0 (0,8)	1,5 (1,3)	<0,001
Bilirrubina total	185	0,7 (0,6)	0,8 (0,9)	0,327
Plaquetas	185	166500 (110500)	188000 (147500)	0,257
Mediana de tiempo (IQR)				
Tiempo en el hospital	187	16.0 (19.5)	14.5 (18.5)	0.967
Tiempo en UCI	187	4.0 (8.0)	7.5 (15.3)	0.065
Tiempo intubación	187	0.0 (2.0)	2.5 (10.3)	0.009
Mortalidad (n (%))				
Mortalidad	187	26 (16,8%)	7 (21,9%)	0,664
Mortalidad a los 28 días	187	18 (11,6%)	6 (18,8%)	0,419
Mortalidad a los 60 días	187	26 (16,8%)	7 (21,9%)	0,664
Mortalidad a los 90 días	187	26 (16,8%)	8 (25,0%)	0,397

Tabla 21 Características analíticas, estancia y predicción de mortalidad de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1.

El Clúster 1 mayor incidencia de hipotensión que requirió uso de noradrenalina en el postoperatorio inmediato (54 (34,8%) vs. 19 (59,4%) valor $p = 0,017$), insuficiencia renal oligúrica inmediato (13 (8,5%) vs. 7 (21,9%) valor $p = 0,05$), de los cuales requirieron técnicas continuas de depuración extrarrenal (5 (3,2%) vs. 6 (18,8%) valor $p = 0,003$), dificultad respiratoria (6 (3,9%) vs. 5 (15,6%) valor $p = 0,031$) y delirium (5 (3,2%) vs. 5 (15,6%) valor $p = 0,017$) (Tabla 22).

Características	N	Clúster 0 (N=155)	Clúster 1 (N=32)	Valor p
Reintervención por hemorragia	187	16 (10,3%)	5 (15,6%)	0,577
Necesidad de readmisión	187	18 (11,6%)	4 (12,5%)	1
Noradrenalina	187	54 (34,8%)	19 (59,4%)	0,017
Insuficiencia renal oligúrica aguda	185	13 (8,5%)	7 (21,9%)	0,057
Dificultad respiratoria	187	6 (3,9%)	5 (15,6%)	0,031
Insuficiencia respiratoria	187	23 (14,8%)	6 (18,8%)	0,773
Colecistitis alitiásica	187	1 (0,6%)	2 (6,3%)	0,127
Paro cardiaco	187	3 (1,9%)	0 (0,0%)	0,984

Fibrilación auricular	187	19 (12,3%)	7 (21,9%)	0,25
Infarto agudo	187	3 (1,9%)	0 (0,0%)	0,984
Ictus	187	2 (1,3%)	0 (0,0%)	1
Hemiplejía	187	2 (1,3%)	0 (0,0%)	1
Delirio postoperatorio	186	5 (3,2%)	5 (15,6%)	0,017
Despertar patológico	187	2 (1,3%)	2 (6,3%)	0,274
Reintubación	187	16 (10,3%)	3 (9,4%)	1
Traqueotomía	187	5 (3,3%)	0 (0,0%)	0,669
Traqueotomía percutánea	187	1 (0,6%)	1 (3,1%)	0,766
Balón intraaórtico contrapulsación	187	2 (1,3%)	1 (3,1%)	1
Procedimientos de ventilación mecánica	187	103 (66,5%)	27 (15,6%)	0,073
Hemodiafiltración	186	5 (3,2%)	6 (18,8%)	0,003
Diálisis convencional	185	2 (1,3%)	0 (0,0%)	1

Tabla 22 Complicaciones postoperatorias de los pacientes del Clúster 0 y Clúster 1

5.2.5 Análisis multivariante

Se llevó a cabo el análisis univariante realizado con las variables de las Tablas 19, 20, 21, y 22 que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre clústeres (valor p no ajustado < 0,05), controlando edad y sexo como covariables. La procalcitonina no fue incluida por estar presente solo en el 74% (138/187) de los pacientes, y la intubación orotraqueal tampoco fue incluida por tratarse de una variable de seguimiento. Posteriormente, se realizó un análisis multivariante con las variables que mostraron un valor p ajustado < 0,05 en la Tabla 26. Antes de incluir estas variables en el modelo, se comprobó la colinealidad (Figura 23) y, entre las escalas, solo se incluyó APACHE (Tabla 23).

Características	N	OR	IC del 95%	Valor p
Categoría Clínica	187	-0,488	(-0,797 - -0,1797)	0,0019
Ictus	187	1,38	(0,243 - 2,517)	0,017
Enfermedad renal crónica	187	1,282	(0,222 - 2,341)	0,018
Lactato	187	0,371	(0,150 - 0,593)	0,00099
Potasio	187	0,791	(0,204 - 1,379)	0,0082
Creatinina	178	0,584	(0,182 - 0,986)	0,0044
Noradrenalina	187	1,042	(0,252 - 1,833)	0,0097
Dificultad respiratoria	187	1,549	(0,287 - 2,811)	0,016
Delirio postoperatorio	186	1,75	(0,422 - 3,078)	0,0098
Hemodiafiltración	186	2,001	(80,718 - 3,283)	0,0022
APACHE	187	0,099	(0,027 - 0,170)	0,00069
SOFA	187	0,242	(0,104 - 0,382)	0,0006

Tabla 23 Regresión logística univariante ajustada por edad y sexo con Clúster 0 vs. Clúster 1 como variable de resultado

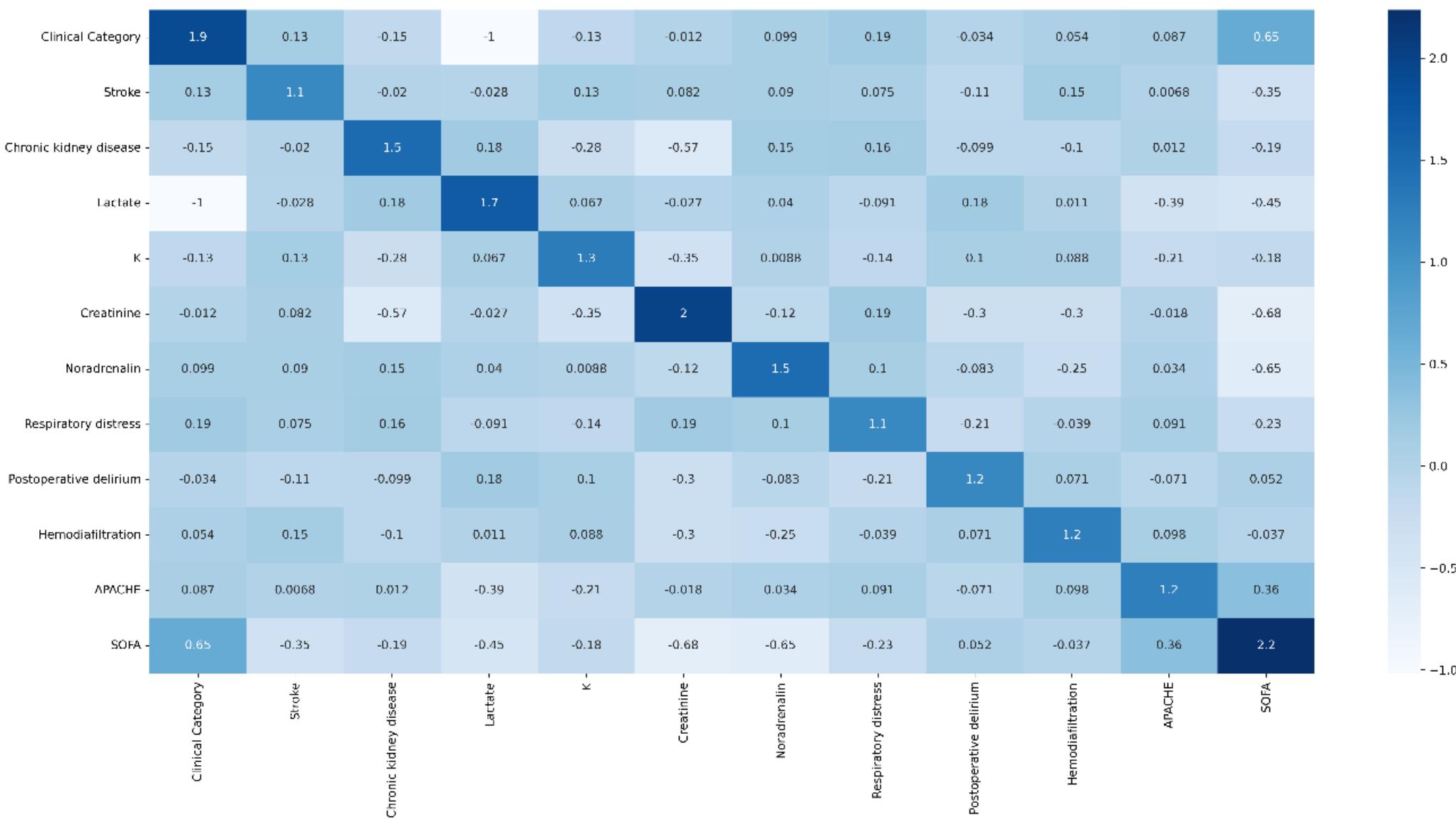


Figura 27 Análisis de colinealidad de las variables incluidas en el análisis multivariante.

El análisis multivariante (Tabla 24 y Figura 28) reveló que la disfunción endotelial se asoció de forma estadísticamente significativa con ictus (OR: 6,374; IC 95%: 1,455-27,928; $p = 0,014$), lactato (OR: 0,974; IC 95%: 0,957-0,991; $p = 0,003$), potasio (OR: 2,522; IC 95%: 1,105-5,754; $p = 0,028$), dificultad respiratoria (OR: 5,061; IC 95%: 1,022-25,056; $p = 0,047$), y requerimientos de hemodiafiltración (OR: 5,267; IC 95%: 1,018-31,116; $p = 0,048$).

Características	OR	IC 95%	Valor p
Categoría Clínica	1,097	(0,733, 1,642)	0,652
Ictus	6,374	(1,455, 27,928)	0,014
Enfermedad renal crónica	0,932	(0,210, 4,145)	0,926
Lactato	0,974	(0,957, 0,991)	0,003
Potasio	2,522	(1,105, 5,754)	0,028
Creatinina	1,186	(0,681, 2,068)	0,546
Noradrenalina	0,977	(0,335, 2,845)	0,966
Dificultad respiratoria	5,061	(1,022, 25,056)	0,047
Delirio postoperatorio	2,925	(0,501, 17,088)	0,233
Hemodiafiltración	5,267	(1,018, 31,116)	0,048
APACHE	0,947	(0,879, 1,021)	0,157

Tabla 24 Regresión logística multivariable ajustada por edad y sexo con Clúster 0 vs. Clúster 1 como variable de resultado.

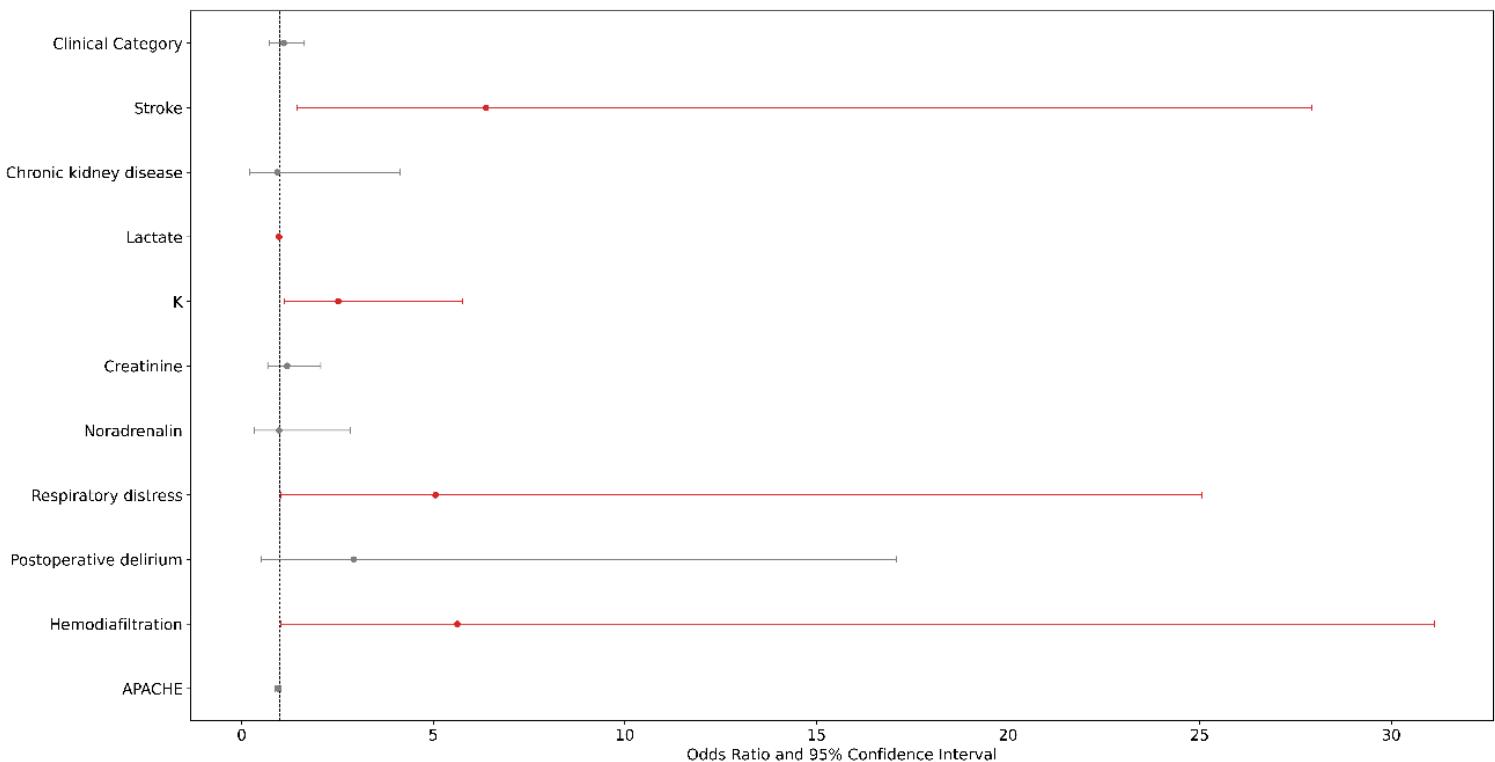


Figura 28 Análisis de regresión logística multivariable para evaluar la asociación de subgrupos de pacientes con factores clínicos.

6 Discusión

6.1 Discusión relativa a la investigación compendio-comparativa

Un diagnóstico precoz que permita un rápido tratamiento intensivo inicial son claves para la mejora del pronóstico de la sepsis. Ciertos biomarcadores potencialmente utilizables para dicho fin se encuentran ampliamente descritos y gran parte de ellos ya disponibles en la práctica clínica habitual. Sin embargo, estos reactantes de fase aguda, también se elevan, en patologías de etiología no infecciosa, por lo que resulta mandatorio la identificación de nuevos biomarcadores con sensibilidad y especificidad suficientes para dicho propósito (168).

SFLT-1 forma parte del equilibrio entre factores angiogénicos presentando bajos valores en personas sin patología endotelial asociada.

Tal y como se describe de forma amplia previamente, sFlt-1 se identifica como significativo en pacientes en shock séptico frente a otros tipos de shock o en pacientes con sepsis leve (criterios Sepsis-2). Dichos resultados se describen ampliamente destacando en el diagnóstico diferencial de shock en urgencias entre sepsis vs no sepsis (169), otras causas de shock (163) y diferencias entre sepsis, sepsis severa y shock séptico. En este último artículo vale la pena reseñar la correlación con la IL-6, así como la escala APACHE-II, escala ya validada para la sepsis para predecir la gravedad y el pronóstico de los pacientes en unidades de cuidados intensivos (159). Estos tres artículos se engloban ya que presentan gran coherencia, ya que hacen referencia a la significación estadística y clínica del aumento de SFLT-1 en estudios comparativos sepsis-shock séptico vs. shock no séptico.

Una de las fortalezas de esta revisión es la descripción detallada de cada estudio análisis multivariante de las patologías ajustadas por comorbilidades, ya que resulta evidente el papel del estado previo de los pacientes como condicionantes de elevación de marcadores de disfunción endotelial (169) (163) (159). En esa línea otro de los artículos identificó la diabetes como un factor añadido a la alteración endotelial objetivando que, en estos pacientes, se produce un incremento significativo adicional de sFLT1 (158). En este caso, no se analizó el pronóstico de dichos pacientes realizando análisis multivariante diabetes-biomarcador-pronóstico, motivo por el cual, su estudio, resultaría de gran interés clínico.

Uno de los criterios de exclusión que presentan gran parte de los artículos es la inmunodepresión de predominio secundaria a patología tumoral, hematológica, diabética, iatrogénica, etc. Por este motivo los artículos que van a ser descritos a continuación resultan especialmente interesantes para el devenir del uso de sFLT-1.

En primer lugar, se comparó sepsis vs shock séptico en pacientes neutropénicos de causa hematológica no presentando diferencias en los valores de sFLT-1, sin embargo, a las 48 horas en los pacientes con shock séptico el aumento fue marcado. Resulta interesante la correlación entre SOFA y sFLT-1 (170).

Los valores de sFlt-1 resultaron no significativos discreparon con el artículo anterior, aunque el cociente que sí fue de interés fue el Ang-1/ Ang-2 que sí fue significativo (160). Resulta mandatorio realizar más estudios en esta población ya que pacientes inmunodeprimidos. Del mismo modo, una de las limitaciones de esta revisión se centra en el papel único de la neutropenia febril secundaria a quimioterapia en el cáncer, ya que no se estudian otras causas de neutropenia febril de causa no iatrogénica.

En el artículo (158), se comparan biomarcadores en pacientes diabéticos con sepsis, sepsis severa y shock séptico. Los resultados muestran que sFLT-1 es positivo en pacientes diabéticos y en aquellos con sepsis más grave. Esto sugiere que la diabetes es un factor añadido a la alteración endotelial en la sepsis.

En cuanto a la mortalidad vale la pena destacar la capacidad de predicción de mortalidad intrahospitalaria de sFLT-1 al ser analizado en urgencias (159). En la misma línea se demostró significativo de predicción de mortalidad el estudio basal, como a las 6 horas como a las 24 horas de los biomarcadores según sus valores independientemente de la estrategia de resucitación hemodinámica empleada (que no resultó diferencial el cambio de biomarcadores) (159). El cociente Ang-1/ Ang-2 mostrando un ratio significativo para el riesgo relativo de fallecer a los 28 días, no así el sFLT-1 (170).

La pandemia de COVID-19 ha demostrado que el virus SARSCoV-2 induce disfunción endotelial, lo que puede conducir a una neumonía intersticial viral. Los estudios han demostrado que los valores de sFLT-1, un biomarcador de la disfunción endotelial, son elevados en pacientes con COVID-19, y que los valores más altos se asocian con una enfermedad más grave.

En particular, los estudios han demostrado que:

- En pacientes no embarazadas con COVID-19, los valores de sFLT-1 aumentan con la gravedad de la enfermedad y se asocian con un mayor riesgo de mortalidad (165).
- En mujeres embarazadas con COVID-19, los valores de sFLT-1 también aumentan con la gravedad de la enfermedad y se asocian con un mayor riesgo de neumonía grave, ingreso en UCI, intubación, sepsis viral y muerte materna (167).
- En mujeres embarazadas con COVID-19, el ratio sFLT-1/ANG-II también aumenta con la gravedad de la enfermedad, pero no se asocia con un mayor riesgo de preeclampsia (166).

Estos hallazgos sugieren que sFLT-1 podría ser un biomarcador útil para la evaluación de la gravedad de la COVID-19 y para la identificación de pacientes con un mayor riesgo de complicaciones.

Skibsted S et al, emplea compara el uso de biomarcadores frente al análisis de oxigenación a pie de cama con sistemas NIRS. Desestimando este procedimiento ante la discrepancia con los biomarcadores y la dificultad técnica (161).

Respecto a las limitaciones del estudio, podríamos citar la falta de análisis estadístico debido a la gran variabilidad de los datos ofrecidos por las diversas publicaciones trabajadas. Aunque a priori podría parecer un limitador de cara a generalizar resulta interesante que en todos los estudios relacionan sFLT-1 como sepsis, gravedad y pronóstico desde enfoques distintos. et.al, (163) plantea el estudio de biomarcadores para el diagnóstico diferencial de shock en urgencias, la falta de discriminación de los estudios en relación con el foco primario de la sepsis (163), así como la falta de descripción entre la diferentes causas de sepsis, ni en los grupos control diferenciar las causas de otros tipos de shock (159).

Day DE et al. (163) identificaron biomarcadores para el diagnóstico diferencial entre shock séptico y otras causas de shock. Sin embargo, los estudios presentaron sesgos de selección de pacientes, como una población reducida, unicéntrica, así como criterios de inclusión restrictivos. Además, la mayoría de los estudios solo midieron los biomarcadores en un momento puntual, lo que podría limitar su utilidad clínica.

Es importante señalar que los biomarcadores no miden el daño endotelial de forma directa sino indirectamente. Por lo que se podría caer en un sesgo de confusión en la que los biomarcadores indirectos resultaran significativos y no se produjera una disfunción endotelial *in situ*, aunque esta última opción no resulta muy factible.

Por último, todos los artículos resultan significativos por lo que llevarlo a cabo en una muestra propia podría indicarnos si se presenta sesgo de publicación. Derivado del presente trabajo podemos afirmar que sería de muy alto interés la realización en un futuro próximo de los estudios correspondientes que permitieran concretar no sólo los valores pronóstico, sino también su incorporación en escalas de predicción de complicaciones nosocomiales y la morbilidad.

Tras sintetizar de forma pormenorizada todos los artículos resulta evidente el papel de sFLT-1 en la disfunción endotelial en primer lugar. En cuanto al papel de la patología microvascular es obvio que forma parte de muchas patologías entre las que se destaca la sepsis. En ese sentido los estudios muestran direccionalidad entre patología infecciosa vs no infecciosa y gravedad según los biomarcadores empleados. El hecho de presentar estudios heterogéneos podría suponer un hándicap, pero interpretamos que es un beneficio ya que muestra distintos tipos de pacientes (pacientes en urgencias, UCI, neutropénicos, diabéticos, COVID-19 y embarazadas) en los que se demuestra el papel de sFLT-1 en la disfunción endotelial de la sepsis, lo que resulta beneficioso de cara a generalizar a toda la población. En esa línea resulta interesante que los resultados no dependen del momento de la extracción de la muestra, sino que permanece inalterable la relación entre biomarcadores y gravedad. Por todo lo citado anteriormente se señala la importancia de la incorporación de sFLT-1 en la práctica clínica ya que añade información a los criterios clínicos y biomarcadores actuales.

Las nuevas teorías van a favor del uso de fármacos cuyas dianas terapéuticas sean específicas de la inflamación, respuesta inmune o disfunción endotelial. La primera de todas es la que más se ha desarrollado hasta ahora sobretodo en patologías autoinmunes, aumentando el número de dianas terapéuticas más allá de la corticoterapia. En esa línea un potencial estudio que se podría plantear es el papel de sFLT-1 en los pacientes en tratamiento activo con hidrocortisona en casos de shock séptico refractario, asumiendo el sesgo de inclusión de pacientes más graves. De este modo se podría analizar el papel de los tratamientos antiinflamatorios como predictores de cambio en los biomarcadores.

6.2 Discusión relativa al ensayo clínico

El comentario a continuación se centra en la caracterización del estudio clínico llevado a cabo por nuestro grupo de trabajo que se desarrollará en cinco aspectos diferenciados.

6.2.1 Capacidad predictiva de los biomarcadores en nuevos grupos

Los criterios actuales para clasificar a los pacientes no se centran en sus características microvasculares sino más bien en su perfil clínico o analítico. La búsqueda de características comunes a los mismos nos permitiría establecer grupos diferenciales para la caracterización de los pacientes y así encontrar nuevos métodos diagnósticos y terapéuticos.

En los últimos años se están llevando a cabo estudios en base a proteínas circulantes y expresión génica de identificación de subfenotipos en la sepsis y enfermedades críticas asociadas (163). Actualmente solo se han identificado en conjuntos de datos retrospectivos, por lo que se requiere una validación prospectiva en ensayos clínicos estratificados por subfenotipos, sin embargo nos están permitiendo alcanzar una mejor comprensión biológica de estos síndromes, en caso de conseguir identificar dichos grupos de pacientes que se beneficiarían de una terapia específica (171).

Basados en datos clínicos se identificaron cuatro fenotipos clínicos nuevos de sepsis que se correlacionan con los patrones de respuesta del huésped y los resultados clínicos, lo que puede ayudar a informar el diseño y la interpretación de los ensayos clínicos (172). El tratamiento dirigido según fenotipos ya se ha descrito como es el caso de la respuesta según el perfil molecular (173).

La hipotensión es una característica común a gran cantidad de pacientes críticamente enfermos, pero todas las hipotensiones no cursan con el mismo perfil molecular. Y es que según las vías de activación de las mismas distinguiremos estados con endotelio normofuncionante (vasoplejia funcional) y otros en los que a nivel microvascular encontramos alteraciones (disfunción endotelial) (49) (50).

La caracterización de estos pacientes es un reto complejo en la que debemos recurrir a la bibliografía y seguir la línea de los estudios actuales que defienden el estado de alteración de ciertos biomarcadores para la predicción del estado vascular.

Angpt-1, Angpt-2 y VEGFR-1 son biomarcadores clave para evaluar la disfunción endotelial. Angpt-1 promueve la estabilidad vascular y reduce la permeabilidad capilar lo que previene de la extravasación de líquidos (174). Por el lado contrario Angpt-2 actúa como un antagonista de Angpt-1, compitiendo por la unión a Tie-2 y desestabilizando el endotelio (175). Este equilibrio dictará la respuesta inflamatoria por el reclutamiento leucocitario y la fuga capilar. VEGFR-1 es el principal mediador de los efectos proangiogénicos desempeñando un papel indispensable en la angiogénesis y daño tisular (176).

Mediante enfoques de IA se analizaron estos tres biomarcadores para el establecimiento del protocolo que nos permitía distinguir los dos grupos:

- Clúster 0: Disfunción endotelial
- Clúster 1: Sin disfunción endotelial

La coexistencia de niveles elevados de Angpt-1 y Angpt-2 en el Clúster 1 sugiere un estado avanzado de activación endotelial en el que Angpt-1 no consigue contrarrestar los efectos proinflamatorios de Angpt-2. VEGFR-1 exacerbaba este desequilibrio al promover la inflamación y la permeabilidad vascular. Un análisis integrado de estos biomarcadores proporciona información sólida sobre los mecanismos subyacentes y resalta su potencial para guiar intervenciones personalizadas, especialmente en contextos postoperatorios.

6.2.2 Herramienta facilitadora de un enfoque dirigido

En este sentido, un hallazgo muy interesante de nuestro estudio es la capacidad de predicción de disfunción endotelial del modelo planteado en función de Angpt-1, Angpt-2 y VEGFR -1 entre los dos clústeres independientemente del grupo original al que perteneciera el paciente (Shock séptico, Sepsis, Shock no séptico, SIRS, Control). Y es que nos permite establecer una nueva categoría clínica que obvie los criterios actuales de clasificación y empezar a clasificar a los pacientes en cuanto a la presencia de disfunción endotelial.

Resulta muy prometedor la identificación de estos Clúster ya que se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de gravedad de los pacientes (APACHE II y SOFA) lo que condiciona un mayor riesgo de mortalidad (137). Esto indicaría a priori que los pacientes con vasoplejia de origen funcional pueden considerarse como pacientes de bajo riesgo, pudiéndose tratar con medidas más conservadoras. Sin embargo, los pacientes con niveles elevados presentan disfunción endotelial y por tanto mayor mortalidad, de este modo deberá considerarse un paciente especialmente en riesgo. Esta distinción podría ser el inicio de la

valoración de la decisión del lugar de tratamiento de los pacientes y seguimiento de estos ya sea en el domicilio, en planta de hospitalización o en Unidades de Cuidados Intensivos.

Aunque las escalas APACHE-II y SOFA, han sido validadas para la estratificación del riesgo de mortalidad resultan farragosas en la práctica clínica habitual y limitadas al uso de gestión hospitalaria o investigador. Sin embargo, haber podido obtener un Clúster que lo identifique como bien correlacionado con los biomarcadores nos permite concluir su relación con la predicción de mortalidad.

6.2.3 Asociación con analítica

En nuestro estudio se demuestran resultados favorables a estar en el Clúster 1 para PCR [NS] y PCT de forma estadísticamente significativa. Estos resultados los encuadramos en la capacidad que tienen los biomarcadores anteriores para la predicción de estados muy proinflamatorios en los que la PCR aumenta en estados proinflamatorios como la infección o daño tisular en el cuerpo por otras causas como traumatismos, enfermedades autoinmunes o quemaduras (48). Esto mismo se refrenda en cuanto a la actividad hiperinflamatoria de la neumonía por COVID-19 (177). Si nos referimos a PCT, ha sido ampliamente descrita para la evaluación de un marcador infeccioso de tipo bacteriano y como criterio para la reducción de antibióticos (178). Se encuentra además validado para la desescalada de antibióticos en pacientes críticos (84), incluso se han desarrollado algoritmos de monitorización para predecir el pronóstico de pacientes con sepsis (179).

La correlación con estos dos biomarcadores permite abrir nuestros resultados a futuros desarrollos como son la predicción de infección bacteriana, inicio y desescalada de antibiótico y la gravedad de los pacientes como posibles aspectos para tener en cuenta en la identificación de pacientes según sus características tisulares.

6.2.4 Asociación con disfunción orgánica

La disfunción multiorgánica (DMO) es una condición caracterizada por el fallo progresivo de múltiples sistemas orgánicos en pacientes críticamente enfermos, comúnmente asociada a respuestas inflamatorias desreguladas (180). Entre ellos se destaca el sistema cardiovascular, respiratorio, coagulación, renal, digestivo y neurológico.

En caso de alteración del sistema cardiovascular, la manifestación más frecuente es la hipotensión. En casos en los que la hipoperfusión periférica es significativa, se observa un incremento en los niveles de lactato, siendo este ampliamente descrito como indicador de la gravedad y el pronóstico (181). En este contexto, los pacientes del Clúster 1 presentan cifras más elevadas de lactato lo que sugiere la existencia de una disfunción mitocondrial de los tejidos. No es de extrañar que esta alteración en el metabolismo celular conllevó en este grupo de

pacientes a una mayor dependencia de fármacos vasoactivos, como la noradrenalina, evidenciando la necesidad de un soporte hemodinámico más agresivo.

Por otro lado, la disfunción respiratoria en el contexto de la sepsis se caracteriza por la presencia de hipoxemia e infiltrados pulmonares bilaterales de origen no cardiogénico, constituyendo en los casos más graves, el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) (182). Se ha observado que los pacientes del Clúster 1 presentan una mayor necesidad de ventilación mecánica, reflejando de este modo una alteración pulmonar más severa. Esta mayor dificultad respiratoria podría estar relacionada con una respuesta inflamatoria exacerbada.

En lo que respecta a la alteración de la hemostasia, destacará la anemia, plaquetopenia o coagulopatía de causas multifactoriales que cursará en su máxima expresión en la pancitopenia grave, reflejando un fallo medular secundario a la agresión sistémica. En nuestro caso, no se demostraron diferencias en cuanto a la coagulopatía, alteraciones en la línea roja descritas como hematocrito ni en la cifra de plaquetas. Estos hallazgos sugieren que las diferencias fisiopatológicas entre los grupos pueden no estar directamente vinculadas con la disfunción endotelial, o que la variabilidad interindividual podría enmascarar diferencias estadísticamente significativas. Dicho campo de estudio merece un seguimiento especial en futuras investigaciones al ser objeto de muchas de los condicionantes de complicaciones en el paciente críticamente enfermo.

La insuficiencia renal será una de las manifestaciones clínicas más habituales del paciente crítico cursando de dos formas, fundamentalmente, como son la insuficiencia renal aguda (IRA) oligúrica y no oligúrica que dependerá fundamentalmente del grado de afectación funcional y hemodinámica del riñón. Del mismo modo, es común la aparición de alteraciones en el equilibrio ácido-base y en la homeostasis hidroelectrolítica lo que contribuirá al fallo multiórgano. En este estudio se destaca que los pacientes del Clúster 1 presentaron mayor probabilidad de insuficiencia renal requiriendo también de forma estadísticamente significativa, un mayor uso de técnicas de remplazo renal extracorpóreo. Adicionalmente, en este subgrupo se ha observado una mayor predisposición a la hipertotasemias.

El compromiso del sistema nervioso central en este contexto se manifiesta con alteraciones en el nivel de conciencia y la presencia de delirium. En el análisis de nuestra cohorte, se ha identificado que los pacientes pertenecientes al Clúster 1 presentan con mayor frecuencia alteraciones del despertar patológico y una mayor incidencia de delirium.

Por último, otras manifestaciones clínicas menos frecuentes serán: el ileo paralítico, alteración del perfil hepático o alteraciones glucometabólicas. En nuestro caso, no se demostraron diferencias en cuanto al tránsito intestinal, cifras de bilirrubina y glucemia postoperatoria.

En conjunto, estos hallazgos permiten la asociación de biomarcadores de disfunción endotelial con Clústers que caractericen subgrupos de pacientes con mayor disfunción multiorgánica,

mayor dependencia de soporte hemodinámico y respiratorio, y peor pronóstico neurológico. La integración de estos parámetros permite predecir complicaciones graves y guiar intervenciones terapéuticas dirigidas para mejorar los resultados en pacientes críticamente enfermos.

6.2.5 Impacto en la mortalidad de la disfunción endotelial severa

A pesar de que la presencia al Clúster 1 se asoció con mayores niveles de APACHE -II y SOFA en cuanto a escalas pronóstico, mayor cantidad de complicaciones reflejo de disfunción orgánica severa como SDRA, días de intubación orotraqueal, delirium, necesidad de noradrenalina, etc. no se observaron diferencias significativas en la mortalidad.

Aunque a priori podría pensarse como algo negativo, nuestro equipo de trabajo interpreta estos resultados en positivo, ya que la presencia de tantas características condicionantes del paciente crítico las hace difícilmente identificables como características diferenciales que condicionen cambios en la mortalidad. Estos hallazgos abren la puerta a nuevas investigaciones en el campo de la alteración microvascular y la búsqueda de nuevos patrones celulares que presenten condicionantes en cuanto a la supervivencia.

6.3 Limitaciones del estudio

El principal punto fuerte de nuestro estudio es el análisis de datos a partir de una muestra de un estudio multicéntrico retrospectivo en España. Además, nuestro estudio cuenta con un amplio tamaño muestral, lo que le confiere un elevado poder estadístico.

En cuanto a las limitaciones no se puede excluir un sesgo de selección al considerar sólo pacientes postquirúrgicos y que hayan sido admitidos en la UCI.

La principal limitación de este estudio ha sido el carácter puntual de la identificación de los biomarcadores para establecer el valor pronóstico de la identificación en los Clústers. El seguimiento de estos pacientes nos permitiría establecer el mejor punto de los biomarcadores para establecer el pronóstico, o incluso valorar un cambio de Clúster en función de la evolución del paciente. A pesar de esto, el uso de una única determinación ha sido suficiente para predecir el riesgo de fracasos orgánicos y otras complicaciones postquirúrgicas lo que resulta clave en el seguimiento del paciente crítico.

Del mismo modo, sería interesante establecer la relación del Clúster con otros biomarcadores que se están iniciando en la actualidad tanto de disfunción endotelial como mitocondrial, incluso, yendo un paso más allá, la identificación de patrones en la secuencia proteica.

Asimismo, debe confirmarse en otra población si los Clústers son otro posible campo de identificación de los pacientes y si resulta interesante para las decisiones terapéuticas. Nuestro

grupo de trabajo sostiene que las líneas futuras de buena parte de los investigadores irán en esta dirección, reformulando los criterios actuales de disfunción orgánica.

7 Conclusiones

- La determinación de sFLT-1 constituye un biomarcador con alto poder discriminativo en el diagnóstico diferencial entre sepsis y otras patologías. Permiten distinguir la gravedad en los pacientes con sepsis. Resulta complementaria a los criterios habituales de diagnóstico diferencial en pacientes con shock séptico y otras formas de shock.
- Los pacientes con elevados niveles de sFLT-1 presentarán mayor puntuación en la escala APACHE- II, así como mayor mortalidad hospitalaria.
- El análisis detallado de la relación entre sFLT-1 y la neumonía por SARS-CoV-2 demuestra cómo sFLT-1 es fundamental en la predicción de complicaciones graves, incluyendo la necesidad de ingreso en UCI y la mortalidad materna en embarazadas infectadas.
- Identificamos una nueva clasificación de pacientes basada en el endotelio, independientemente de los criterios tradicionales: pacientes con vasoplejia funcional frente a pacientes con disfunción endotelial. Este hallazgo sugiere que los pacientes con disfunción endotelial pueden considerarse de alto riesgo y requieren un manejo clínico más intensivo.
- La presencia de disfunción endotelial ha mostrado una fuerte correlación con los biomarcadores ya validados PCR y PCT. Esto refuerza la teoría del estado microvascular como predominante en los estados sépticos e hiperinflamatorios. Además, se asociará a puntuaciones más altas en escalas pronósticas como APACHE-II y SOFA.
- La alteración de estos biomarcadores se asocia a disfunción multiorgánica traducida en niveles elevados de lactato y mayor necesidad de soporte vasoactivo con noradrenalina. Mayor compromiso respiratorio más grave requiere más días de ventilación mecánica. Mayor incidencia de insuficiencia renal requiere con más frecuencia técnicas de reemplazo renal. Todas estas diferencias resaltan la importancia del perfil endotelial en la evolución clínica de los pacientes críticos.

8 Bibliografía

1. Rivera OM. Introducción Crítica a la Historia de la Medicina [Internet]. Universidad de Caldas; 1999. (Introducción crítica a la historia de la medicina). Available from: <https://books.google.es/books?id=ikY1LVtuDWwC>
2. Majno G. The ancient riddle of sigma eta psi iota sigma (sepsis). *J Infect Dis.* 1991 May;163(5):937–45.
3. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. A brief history of wound care. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Jun;117(7 Suppl):6S-11S.
4. Blum YC, Esterhai JL. The history of the treatment of musculoskeletal infection. *Oper Tech Orthop* [Internet]. 2002;12(4):226–31. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1048666602900303>
5. Thurston AJ. Of blood, inflammation and gunshot wounds: the history of the control of sepsis. *Aust N Z J Surg.* 2000 Dec;70(12):855–61.
6. Forrest RD. Early history of wound treatment. *J R Soc Med.* 1982 Mar;75(3):198–205.
7. Fracastoro G, Wright WC. *De contagione et contagiosis morbis et eorum curatione, libri III:* [Internet]. G. P. Putnam's sons; 1930. (History of medicine series). Available from: <https://books.google.es/books?id=fR86AAAAMAAJ>
8. A. Millar D. Wilson and T. Pay. *Observations on the Diseases of the Army, in Camp and Garrison.* 1752;XXIII:431.
9. Kadar N. Rediscovering Ignaz Philipp Semmelweis (1818-1865). *Am J Obstet Gynecol.* 2019 Jan;220(1):26–39.
10. Blevins SM, Bronze MS. Robert Koch and the 'golden age' of bacteriology. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2010;14(9):e744–51. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971210023143>
11. Rosenbach FJ. *Mikro-organismen bei den Wund-Infectionen-Krankheiten des Menschen* [Internet]. Wiesbaden: J.F. Bergmann; 1884. Available from: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/63776>
12. Billroth T, Winiwarter A von, Hackley CE. *General surgical pathology and therapeutics: in fifty-one lectures ...* [Internet]. New York: D. Appleton and company; 1885. p. xvi, 835 p. Available from: <https://catalog.hathitrust.org/Record/002086454>
13. Fleming A. *On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzae.* Vol.

- 10, British journal of experimental pathology. 1929. p. 226–36. (Sepsis-3). JAMA. 2016 Feb;315(8):801–10.
14. Vincent J-L. Critical care--where have we been and where are we going? *Crit Care*. 2013;17 Suppl 1(Suppl 1):S2.
15. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992 Jun;20(6):864–74.
16. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003 Apr;31(4):1250–6.
17. Neira E, Malaga G. Sepsis-3 y las nuevas definiciones, ¿es tiempo de abandonar SIRS? *ACTA MEDICA Peru*. 2016 Dec 5;33:217.
18. Sprung CL, Sakr Y, Vincent J-L, Le Gall J-R, Reinhart K, Ranieri VM, et al. An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the Sepsis Occurrence In Acutely Ill Patients (SOAP) study. *Intensive Care Med*. 2006 Mar;32(3):421–7.
19. 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
20. Chiu C, Legrand M. Epidemiology of sepsis and septic shock. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2021 Apr;34(2):71–6.
21. Murray CJL, Lopez AD. Measuring the global burden of disease. *N Engl J Med*. 2013 Aug;369(5):448–57.
22. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol*. 2020 Dec;76(25):2982–3021.
23. Seymour CW, Rea TD, Kahn JM, Walkey AJ, Yealy DM, Angus DC. Severe sepsis in pre-hospital emergency care: analysis of incidence, care, and outcome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Dec;186(12):1264–71.
24. Fleischmann-Struzek C, Rudd K. Challenges of assessing the burden of sepsis. *Med Klin Intensivmed Notfmed*. 2023 Dec;118(Suppl 2):68–74.
25. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet (London, England)*. 2020 Jan;395(10219):200–11.

26. Paoli CJ, Reynolds MA, Sinha M, Gitlin M, Crouser E. Epidemiology and Costs of Sepsis in the United States-An Analysis Based on Timing of Diagnosis and Severity Level. *Crit Care Med.* 2018 Dec;46(12):1889–97.
27. León C, Loza A. Biomarcadores en la sepsis. ¿Simplificando lo complejo? *Enferm Infect Microbiol Clin [Internet].* 2014;32(3):137–9.
28. Liu V, Escobar GJ, Greene JD, Soule J, Whippy A, Angus DC, et al. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. *JAMA.* 2014 Jul;312(1):90–2.
29. Danai PA, Moss M, Mannino DM, Martin GS. The epidemiology of sepsis in patients with malignancy. *Chest.* 2006 Jun;129(6):1432–40.
30. Sørensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med.* 1988 Mar;318(12):727–32.
31. O'Brien JMJ, Lu B, Ali NA, Martin GS, Aberegg SK, Marsh CB, et al. Alcohol dependence is independently associated with sepsis, septic shock, and hospital mortality among adult intensive care unit patients. *Crit Care Med.* 2007 Feb;35(2):345–50.
32. Arcavi L, Benowitz NL. Cigarette smoking and infection. *Arch Intern Med.* 2004 Nov;164(20):2206–16.
33. de Haan K, Groeneveld ABJ, de Geus HRH, Egal M, Struijs A. Vitamin D deficiency as a risk factor for infection, sepsis and mortality in the critically ill: systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2014 Dec;18(6):660.
34. Lagu T, Rothberg MB, Shieh M-S, Pekow PS, Steingrub JS, Lindenauer PK. Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007. *Crit Care Med.* 2012 Mar;40(3):754–61.
35. Iñigo J, Sendra JM, Díaz R, Bouza C, Sarría-Santamera A. [Epidemiology and costs of severe sepsis in Madrid. A hospital discharge study]. *Med intensiva.* 2006;30(5):197–203.
36. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001 Jul;29(7):1303–10.
37. Nguyen HB, Corbett SW, Steele R, Banta J, Clark RT, Hayes SR, et al. Implementation of a bundle of quality indicators for the early management of severe sepsis and septic shock is associated with decreased mortality. *Crit Care Med.* 2007 Apr;35(4):1105–12.
38. Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and

- immunity. *Immunol Rev.* 2012 Sep;249(1):158–75.
39. Hu D, Sheeja Prabhakaran H, Zhang YY, Luo G, He W, Liou YC. Mitochondrial dysfunction in sepsis: mechanisms and therapeutic perspectives. *Crit Care* [Internet]. 2024;28(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s13054-024-05069-w>
40. Kollef KE, Schramm GE, Wills AR, Reichley RM, Micek ST, Kollef MH. Predictors of 30-day mortality and hospital costs in patients with ventilator-associated pneumonia attributed to potentially antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Chest.* 2008 Aug;134(2):281–7.
41. Dolmatova E V, Wang K, Mandavilli R, Griendling KK. The effects of sepsis on endothelium and clinical implications. *Cardiovasc Res.* 2021 Jan;117(1):60–73.
42. Lee WL, Slutsky AS. Sepsis and endothelial permeability. *N Engl J Med.* 2010 Aug;363(7):689–91.
43. Sallisalmi M, Tenhunen J, Yang R, Oksala N, Pettilä V. Vascular adhesion protein-1 and syndecan-1 in septic shock. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2012 Mar;56(3):316–22.
44. David S, Mukherjee A, Ghosh CC, Yano M, Khankin E V, Wenger JB, et al. Angiopoietin-2 may contribute to multiple organ dysfunction and death in sepsis*. *Crit Care Med.* 2012 Nov;40(11):3034–41.
45. Nava E, Palmer RM, Moncada S. The role of nitric oxide in endotoxic shock: effects of NG-monomethyl-L-arginine. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1992;20 Suppl 1:S132-4.
46. Iba T, Connors JM, Nagaoka I, Levy JH. Recent advances in the research and management of sepsis-associated DIC. *Int J Hematol.* 2021 Jan;113(1):24–33.
47. Kaser A, Brandacher G, Steurer W, Kaser S, Offner FA, Zoller H, et al. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood.* 2001 Nov;98(9):2720–5.
48. Flemming S, Burkard N, Renschler M, Vielmuth F, Meir M, Schick MA, et al. Soluble VE-cadherin is involved in endothelial barrier breakdown in systemic inflammation and sepsis. *Cardiovasc Res.* 2015;107(1):32–44.
49. Mederle K, Schweda F, Kattler V, Doblinger E, Miyata K, Höcherl K, et al. The angiotensin II AT1 receptor-associated protein Arap1 is involved in sepsis-induced hypotension. *Crit Care.* 2013 Jul;17(4):R130.
50. Schmidt C, Kurt B, Höcherl K, Bucher M. Inhibition of NF-κappaB activity prevents downregulation of alpha1-adrenergic receptors and circulatory failure during CLP-induced sepsis. *Shock.* 2009 Sep;32(3):239–46.

51. Magder S. Volume and its relationship to cardiac output and venous return. *Crit Care*. 2016 Sep;20(1):271.
52. Hess ML, Hastillo A, Greenfield LJ. Spectrum of cardiovascular function during gram-negative sepsis. *Prog Cardiovasc Dis*. 1981;23(4):279–98.
53. Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, et al. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med*. 1984 Apr;100(4):483–90.
54. De Backer D, Bakker J, Cecconi M, Hajjar L, Liu DW, Lobo S, et al. Alternatives to the Swan-Ganz catheter. *Intensive Care Med*. 2018 Jun;44(6):730–41.
55. Alejandro BC, Ronald PM, Glenn HP. Manejo del paciente en shock séptico. *Rev Médica Clínica Las Condes* [Internet]. 2011;22(3):293–301. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-manejo-del-paciente-shock-septico-S0716864011704291>
56. Ahrens T. Continuous mixed venous (SvO₂) monitoring. Too expensive or indispensable? *Crit Care Nurs Clin North Am*. 1999 Mar;11(1):33–48.
57. Gunnerson KJ, Saul M, He S, Kellum JA. Lactate versus non-lactate metabolic acidosis: a retrospective outcome evaluation of critically ill patients. *Crit Care*. 2006 Feb;10(1):R22.
58. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2013 Aug;369(9):840–51.
59. Maneta E, Aivalioti E, Tual-Chalot S, Emini Veseli B, Gatsiou A, Stamatelopoulos K, et al. Endothelial dysfunction and immunothrombosis in sepsis. *Front Immunol*. 2023;14:1144229.
60. Xu H, Sheng S, Luo W, Xu X, Zhang Z. Acute respiratory distress syndrome heterogeneity and the septic ARDS subgroup. *Front Immunol*. 2023;14:1277161.
61. Matthay MA, Arabi Y, Arroliga AC, Bernard G, Bersten AD, Brochard LJ, et al. A New Global Definition of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2024 Jan;209(1):37–47.
62. De Léon MD, Moreno SA, Diaz DJG, Briones GJ. Sepsis severa como causa de falla renal aguda. *Nefrologia*. 2006;26(4):439–44.
63. Ayala GU, Yucra PC. Falla Renal Aguda Por Sepsis. *Rev Med La Paz* [Internet]. 2019;25(1):25. Available from: chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/http://www.scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v25n1/v25n1_a12.pdf
64. Ghenu MI, Dragoş D, Manea MM, Ionescu D, Negreanu L.

- Pathophysiology of sepsis-induced cholestasis: A review. *JGH open an open access J Gastroenterol Hepatol.* 2022 Jun;6(6):378–87.
65. Bernal W. El hígado en la enfermedad sistémica: sepsis y enfermedad crítica. *Clin liver Dis.* 2016 Nov;8(Suppl 1):S6–9.
66. Wang D, Yin Y, Yao Y. Advances in sepsis-associated liver dysfunction. *Burn trauma.* 2014;2(3):97–105.
67. Lima MR, Silva D. Septic cardiomyopathy: A narrative review. *Rev Port Cardiol orgao Of da Soc Port Cardiol = Port J Cardiol an Off J Port Soc Cardiol.* 2023 May;42(5):471–81.
68. Cimolai MC, Alvarez S, Bode C, Bugger H. Mitochondrial mechanisms in septic cardiomyopathy. *Int J Mol Sci.* 2015;16(8):17763–78.
69. Flierl MA, Rittirsch D, Huber-Lang MS, Sarma JV, Ward PA. Molecular events in the cardiomyopathy of sepsis. *Mol Med.* 2008;14(5–6):327–36.
70. Zhao L, Gao Y, Guo S, Lu X, Yu S, Ge ZZ, et al. Sepsis-Associated Encephalopathy: Insight into Injury and Pathogenesis. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2021;20(2):112–24.
71. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem.* 2016 Oct;139 Suppl(Suppl 2):136–53.
72. Varatharaj A, Galea I. The blood-brain barrier in systemic inflammation. *Brain Behav Immun [Internet].* 2017;60:1–12. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889159116300551>
73. Van Wyngene L, Vandewalle J, Libert C. Reprogramming of basic metabolic pathways in microbial sepsis: therapeutic targets at last? *EMBO Mol Med [Internet].* 2018 Aug 1;10(8):e8712. Available from: <https://doi.org/10.15252/emmm.201708712>
74. Goodson CM, Rosenblatt K, Rivera-Lara L, Nyquist P, Hogue CW. Cerebral Blood Flow Autoregulation in Sepsis for the Intensivist: Why Its Monitoring May Be the Future of Individualized Care. *J Intensive Care Med.* 2018 Feb;33(2):63–73.
75. Kubo K, Sakuraya M, Sugimoto H, Takahashi N, Kano K-I, Yoshimura J, et al. Benefits and Harms of Procalcitonin- or C-Reactive Protein-Guided Antimicrobial Discontinuation in Critically Ill Adults With Sepsis: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Crit Care Med.* 2024 Oct;52(10):e522–34.
76. Carbajal-Guerrero J, Cayuela-Domínguez A, Fernández-García E,

- Aldabó-Pallás T, Márquez-Vácaro JA, Ortiz-Leyba C, et al. [Epidemiology and long-term outcome of sepsis in elderly patients]. *Med intensiva*. 2014;38(1):21–32.
77. Pittet D, Tarara D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA*. 1994 May;271(20):1598–601.
78. Haas SA, Lange T, Saugel B, Petzoldt M, Fuhrmann V, Metschke M, et al. Severe hyperlactatemia, lactate clearance and mortality in unselected critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2016 Feb;42(2):202–10.
79. Pierrickos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care*. 2010;14(1):R15.
80. Tan M, Lu Y, Jiang H, Zhang L. The diagnostic accuracy of procalcitonin and C-reactive protein for sepsis: A systematic review and meta-analysis. *J Cell Biochem*. 2019 Apr;120(4):5852–9.
81. Uzzan B, Cohen R, Nicolas P, Cucherat M, Perret G-Y. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med*. 2006 Jul;34(7):1996–2003.
82. Martín-Fernández M, Tamayo- Velasco Á, Aller R, Gonzalo-Benito H, Martínez-Paz P, Tamayo E. Endothelial Dysfunction and Neutrophil Degranulation as Central Events in Sepsis Physiopathology. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun;22(12).
83. Almansa R, Martín S, Martín-Fernandez M, Heredia-Rodríguez M, Gómez-Sánchez E, Aragón M, et al. Combined quantification of procalcitonin and HLA-DR improves sepsis detection in surgical patients. *Sci Rep*. 2018 Aug;8(1):11999.
84. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet (London, England)*. 1993 Feb;341(8844):515–8.
85. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013 May;13(5):426–35.
86. Leli C, Ferranti M, Marrano U, Al Dhahab ZS, Bozza S, Cenci E, et al. Diagnostic accuracy of presepsin (sCD14-ST) and procalcitonin for prediction of bacteraemia and bacterial DNAaemia in patients with suspected sepsis. *J Med Microbiol*. 2016 Aug;65(8):713–9.
87. Haupt TH, Petersen J, Ellekilde G, Klausen HH, Thorball CW, Eugen-

- Olsen J, et al. Plasma suPAR levels are associated with mortality, admission time, and Charlson Comorbidity Index in the acutely admitted medical patient: a prospective observational study. *Crit Care*. 2012 Jul;16(4):R130.
88. Savva A, Raftogiannis M, Baziaka F, Routsi C, Antonopoulou A, Koutoukas P, et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) for assessment of disease severity in ventilator-associated pneumonia and sepsis. *J Infect*. 2011 Nov;63(5):344–50.
89. Fialek B, De Roquetaillade C, Pruc M, Navolokina A, Chirico F, Ladny JR, et al. Systematic review with meta-analysis of mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) as a prognostic marker in Covid-19-hospitalized patients. *Ann Med*. 2023 Dec;55(1):379–87.
90. Li Q, Wang BS, Yang L, Peng C, Ma LB, Chai C. Assessment of adrenomedullin and proadrenomedullin as predictors of mortality in septic patients: A systematic review and meta-analysis. *Med Intensiva*. 2018;42(7):416–24.
91. Holm J, Cederholm I, Alehagen U, Lindahl TL, Szabó Z. Biomarker dynamics in cardiac surgery: a prospective observational study on MR-proADM, MR-proANP, hs-CRP and sP-selectin plasma levels in the perioperative period. *Biomarkers Biochem Indic Expo response, susceptibility to Chem*. 2020 May;25(3):296–304.
92. Page A V, Liles WC. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. *Virulence*. 2013 Aug;4(6):507–16.
93. Greco M, Palumbo C, Sicuro F, Lobreglio G. Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1 Is A Marker of Endothelial Dysfunction During Sepsis. *J Clin Med Res*. 2018 Sep;10(9):700–6.
94. Ugalde MJ, Caballero A, Martín Fernández M, Tamayo E, de la Varga-Martínez O. Valor del biomarcador tirosina quinasa 1 soluble tipo fms (sFLT-1) en el diagnóstico y pronóstico de la sepsis: una revisión sistemática. *Med Clin (Barc)*. 2024;163(5):224–31.
95. Hahn RG, Patel V, Dull RO. Human glycocalyx shedding: Systematic review and critical appraisal. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2021 May;65(5):590–606.
96. Lipowsky HH, Gao L, Lescanic A. Shedding of the endothelial glycocalyx in arterioles, capillaries, and venules and its effect on capillary hemodynamics during inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011 Dec;301(6):H2235–45.
97. Torres Filho IP, Torres LN, Salgado

- C, Dubick MA. Plasma syndecan-1 and heparan sulfate correlate with microvascular glycocalyx degradation in hemorrhaged rats after different resuscitation fluids. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016 Jun;310(11):H1468-78.
98. Kali A, Shetty KSR. Endocan: a novel circulating proteoglycan. *Indian J Pharmacol.* 2014;46(6):579–83.
99. Zonneveld R, Martinelli R, Shapiro NI, Kuijpers TW, Plötz FB, Carman C V. Soluble adhesion molecules as markers for sepsis and the potential pathophysiological discrepancy in neonates, children and adults. *Crit Care.* 2014 Feb;18(2):204.
100. Arıkan K, Karadağ-Onçel E, Aytac S, Cengiz AB, Duygu Cetinkaya F, Kara A, et al. The use of serum endothelial adhesion molecules in pediatric patients with leukemia with febrile neutropenia to predict bacteremia. *Cytokine.* 2021 Dec;148:155692.
101. Sessler CN, Windsor AC, Schwartz M, Watson L, Fisher BJ, Sugerman HJ, et al. Circulating ICAM-1 is increased in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995 May;151(5):1420–7.
102. Statz S, Sabal G, Walborn A, Williams M, Hoppensteadt D, Mosier M, et al. Angiopoietin 2 Levels in the Risk Stratification and Mortality Outcome Prediction of Sepsis-Associated Coagulopathy. *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb.* 2018 Nov;24(8):1223–33.
103. Thanh Duyen LT, Manh B Van, Phuong Thao TT, Khanh L Van, Linh Trang BN, Giang NT, et al. Prognostic significance of the angiopoietin-2 for early prediction of septic shock in severe sepsis patients. *Futur Sci OA.* 2022 Dec;8(10):FSO825.
104. Yu W-K, McNeil JB, Wickersham NE, Shaver CM, Bastarache JA, Ware LB. Angiopoietin-2 outperforms other endothelial biomarkers associated with severe acute kidney injury in patients with severe sepsis and respiratory failure. *Crit Care.* 2021 Feb;25(1):48.
105. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Feb;171(4):388–416.
106. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis.* 1983;5(1):35–53.
107. Liu C-F, Shi X-P, Chen Y, Jin Y, Zhang B. Rapid diagnosis of sepsis with TaqMan-Based multiplex real-time PCR. *J Clin Lab Anal.* 2018

- Feb;32(2).
108. Cohen J, Vincent J-L, Adhikari NKJ, Machado FR, Angus DC, Calandra T, et al. Sepsis: a roadmap for future research. *Lancet Infect Dis.* 2015 May;15(5):581–614.
109. Posadas-Calleja JG, Stelfox HT, Ferland A, Zuege DJ, Niven DJ, Berthiaume L, et al. Derivation of a PIRO Score for Prediction of Mortality in Surgical Patients With Intra-Abdominal Sepsis. *Am J Crit Care an Off Publ Am Assoc Crit Nurses.* 2018 Jul;27(4):287–94.
110. Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. *JAMA.* 1993 Dec;270(24):2957–63.
111. Peres Bota D, Melot C, Lopes Ferreira F, Nguyen Ba V, Vincent J-L. The Multiple Organ Dysfunction Score (MODS) versus the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score in outcome prediction. *Intensive Care Med.* 2002 Nov;28(11):1619–24.
112. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373–83.
113. Minne L, Abu-Hanna A, de Jonge E. Evaluation of SOFA-based models for predicting mortality in the ICU: A systematic review. *Crit Care.* 2008;12(6):R161.
114. Askim Å, Moser F, Gustad LT, Stene H, Gundersen M, Åsvold BO, et al. Poor performance of quick-SOFA (qSOFA) score in predicting severe sepsis and mortality - a prospective study of patients admitted with infection to the emergency department. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2017 Jun;25(1):56.
115. Arabi Y, Al Shirawi N, Memish Z, Venkatesh S, Al-Shimemeri A. Assessment of six mortality prediction models in patients admitted with severe sepsis and septic shock to the intensive care unit: a prospective cohort study. *Crit Care.* 2003 Oct;7(5):R116-22.
116. Torsvik M, Gustad LT, Mehl A, Bangstad IL, Vinje LJ, Damås JK, et al. Early identification of sepsis in hospital inpatients by ward nurses increases 30-day survival. *Crit Care.* 2016 Aug;20(1):244.
117. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II-A Severity of Disease Classification System: Reply. *Crit Care Med [Internet].* 1986;14(8). Available from: https://journals.lww.com/ccmjournal/fulltext/1986/08000/apache_ii_a_severity_of_disease_classification.28.aspx

118. Kuo W-K, Hua C-C, Yu C-C, Liu Y-C, Huang C-Y. The cancer control status and APACHE II score are prognostic factors for critically ill patients with cancer and sepsis. *J Formos Med Assoc.* 2020 Jan;119(1 Pt 2):276–81.
119. He Y, Xu J, Shang X, Fang X, Gao C, Sun D, et al. Clinical characteristics and risk factors associated with ICU-acquired infections in sepsis: A retrospective cohort study. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:962470.
120. [The effect of early goal-directed therapy on treatment of critical patients with severe sepsis/septic shock: a multi-center, prospective, randomized, controlled study]. Zhongguo wei zhong bing ji jiu yi xue = Chinese Crit care Med = Zhongguo weizhongbing jijiuyixue. 2010 Jun;22(6):331–4.
121. Marik PE, Monnet X, Teboul J-L. Hemodynamic parameters to guide fluid therapy. *Ann Intensive Care.* 2011 Mar;1(1):1.
122. Delaney AP, Dan A, McCaffrey J, Finfer S. The role of albumin as a resuscitation fluid for patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med.* 2011 Feb;39(2):386–91.
123. Lang JDJ, Figueroa M, Chumley P, Aslan M, Hurt J, Tarpey MM, et al. Albumin and hydroxyethyl starch modulate oxidative inflammatory injury to vascular endothelium. *Anesthesiology.* 2004 Jan;100(1):51–8.
124. Perner A, Haase N, Guttormsen AB, Tenhunen J, Klemenzson G, Åneman A, et al. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N Engl J Med.* 2012 Jul;367(2):124–34.
125. LeDoux D, Astiz ME, Carpati CM, Rackow EC. Effects of perfusion pressure on tissue perfusion in septic shock. *Crit Care Med.* 2000 Aug;28(8):2729–32.
126. Martin C, Viviand X, Leone M, Thirion X. Effect of norepinephrine on the outcome of septic shock. *Crit Care Med.* 2000 Aug;28(8):2758–65.
127. Russell JA, Walley KR, Singer J, Gordon AC, Hébert PC, Cooper DJ, et al. Vasopressin versus norepinephrine infusion in patients with septic shock. *N Engl J Med.* 2008 Feb;358(9):877–87.
128. Morelli A, Ertmer C, Rehberg S, Lange M, Orecchioni A, Laderchi A, et al. Phenylephrine versus norepinephrine for initial hemodynamic support of patients with septic shock: a randomized, controlled trial. *Crit Care.* 2008;12(6):R143.
129. Regnier B, Rapin M, Gory G, Lemaire F, Teisseire B, Harari A. Haemodynamic effects of dopamine in septic shock. *Intensive Care Med.*

- 1977 Aug;3(2):47–53.
130. Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P, Latini R, Tognoni G, Pesenti A, et al. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. *SvO₂* Collaborative Group. *N Engl J Med*. 1995 Oct;333(16):1025–32.
131. Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert P-E, François B, Korach J-M, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA*. 2002 Aug;288(7):862–71.
132. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006 Jun;34(6):1589–96.
133. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med*. 1998 Nov;244(5):379–86.
134. Heyland DK, Johnson AP, Reynolds SC, Muscedere J. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in the critical care setting: a systematic review and an economic evaluation. *Crit Care Med*. 2011 Jul;39(7):1792–9.
135. Jimenez MF, Marshall JC. Source control in the management of sepsis. *Intensive Care Med*. 2001;27 Suppl 1:S49-62.
136. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm reports* *Morb Mortal Wkly report Recomm reports*. 2002 Aug;51(RR-10):1–29.
137. Hajjar LA, Vincent J-L, Galas FRBG, Nakamura RE, Silva CMP, Santos MH, et al. Transfusion requirements after cardiac surgery: the TRACS randomized controlled trial. *JAMA*. 2010 Oct;304(14):1559–67.
138. Practice Guidelines for blood component therapy: A report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. *Anesthesiology*. 1996 Mar;84(3):732–47.
139. Practice parameter for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate, and platelets. Fresh-Frozen Plasma, Cryoprecipitate, and Platelets Administration Practice Guidelines Development Task Force of the College of American Pathologists. *JAMA*. 1994 Mar;271(10):777–81.
140. Warren BL, Eid A, Singer P, Pillay SS, Carl P, Novak I, et al. Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a

- randomized controlled trial. *JAMA*. 2001 Oct;286(15):1869–78.
141. López Rodríguez A. Alteraciones de la coagulación en la sepsis. *Med Intensiva* [Internet]. 2005;29(3):166–77. Available from: <https://medintensiva.org/es-alteraciones-coagulacion-sepsis-articulo-13074189>
142. Van den Berghe G, Wilmer A, Hermans G, Meersseman W, Wouters PJ, Milants I, et al. Intensive insulin therapy in the medical ICU. *N Engl J Med*. 2006 Feb;354(5):449–61.
143. Marini JJ, Ravenscraft SA. Mean airway pressure: physiologic determinants and clinical importance--Part 1: Physiologic determinants and measurements. *Crit Care Med*. 1992 Oct;20(10):1461–72.
144. Ronco C, Bellomo R, Homel P, Brendolan A, Dan M, Piccinni P, et al. Effects of different doses in continuous veno-venous haemofiltration on outcomes of acute renal failure: a prospective randomised trial. *Lancet* (London, England). 2000 Jul;356(9223):26–30.
145. Pildal J, Gøtzsche PC. Polyclonal immunoglobulin for treatment of bacterial sepsis: a systematic review. *Clin Infect Dis* an Off Publ Infect Dis Soc Am. 2004 Jul;39(1):38–46.
146. Corwin HL, Gettinger A, Rodriguez RM, Pearl RG, Gubler KD, Enny C, et al. Efficacy of recombinant human erythropoietin in the critically ill patient: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Crit Care Med*. 1999 Nov;27(11):2346–50.
147. Bellomo R, Forni LG, Busse LW, McCurdy MT, Ham KR, Boldt DW, et al. Renin and Survival in Patients Given Angiotensin II for Catecholamine-Resistant Vasodilatory Shock. A Clinical Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 Nov;202(9):1253–61.
148. De Rosa S, Marengo M, Fiorentino M, Fanelli V, Brienza N, Fiaccadori E, et al. Extracorporeal blood purification therapies for sepsis-associated acute kidney injury in critically ill patients: expert opinion from the SIAARTI-SIN joint commission. *J Nephrol*. 2023 Sep;36(7):1731–42.
149. Hawchar F, Rao C, Akil A, Mehta Y, Rugg C, Scheier J, et al. The Potential Role of Extracorporeal Cytokine Removal in Hemodynamic Stabilization in Hyperinflammatory Shock. *Biomedicines*. 2021 Jul;9(7).
150. David S, Bode C, Stahl K. EXCHANGE-2: investigating the efficacy of add-on plasma exchange as an adjunctive strategy against septic shock-a study protocol for a randomized, prospective, multicenter, open-label, controlled,

- parallel-group trial. *Trials.* 2023 Apr;24(1):277.
151. Blet A, Deniau B, Geven C, Sadoune M, Caillard A, Kounde P-R, et al. Adrecizumab, a non-neutralizing anti-adrenomedullin antibody, improves haemodynamics and attenuates myocardial oxidative stress in septic rats. *Intensive care Med Exp.* 2019 May;7(1):25.
152. Adams R, Henry KE, Sridharan A, Soleimani H, Zhan A, Rawat N, et al. Prospective, multi-site study of patient outcomes after implementation of the TREWS machine learning-based early warning system for sepsis. *Nat Med.* 2022 Jul;28(7):1455–60.
153. Henry KE, Adams R, Parent C, Soleimani H, Sridharan A, Johnson L, et al. Factors driving provider adoption of the TREWS machine learning-based early warning system and its effects on sepsis treatment timing. *Nat Med.* 2022 Jul;28(7):1447–54.
154. Ugalde MJ, Caballero A, Martín Fernández M, Tamayo E, de la Varga-Martínez O. Valor del biomarcador tirosina quinasa 1 soluble tipo fms (sFLT-1) en el diagnóstico y pronóstico de la sepsis: una revisión sistemática. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2020;67(1):224–31. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-valor-del-biomarcador-tirosina-quinasa-1-s0025775324002884>
155. Fraley, C., & Raftery AE. Model-based clustering, discriminant analysis, and density estimation. *J Am Stat Assoc.* 2002;97(458):611–31.
156. Schuetz P, Jones AE, Aird WC, Shapiro NI. Endothelial cell activation in emergency department patients with sepsis-related and non-sepsis-related hypotension. *Shock.* 2011;36(2):104–8.
157. Alves BE, Montalvao SAL, Aranha FJP, Lorand-Metze I, De Souza CA, Annichino-Bizzacchi JM, et al. Time-course of sFlt-1 and VEGF-A release in neutropenic patients with sepsis and septic shock: A prospective study. *J Transl Med.* 2011;9:1–8.
158. Schuetz P, Yano K, Sorasaki M, Ngo L, St Hilaire M, Lucas JM, et al. Influence of diabetes on endothelial cell response during sepsis. *Diabetologia.* 2011;54(5):996–1003.
159. Skibsted S, Jones AE, Puskarich MA, Arnold R, Sherwin R, Trzeciak S, et al. Biomarkers of endothelial cell activation in early sepsis. *Shock.* 2013;39(5):427–32.
160. Luz Fiusa MM, Costa-Lima C, de Souza GR, Vigorito AC, Penteado Aranha FJ, Lorand-Metze I, et al. A high angiopoietin-2/angiopoietin-1 ratio is associated with a high risk of septic shock in patients with febrile

- neutropenia. *Crit Care.* 2013;17(4):1–10.
161. Skibsted S, Arnold R, Sherwin R, Singh S, Lundy D, Nelson T, et al. The association of near infrared spectroscopy-derived StO₂ measurements and biomarkers of endothelial activation in sepsis. *Intern Emerg Med.* 2013;8(6):529–36.
162. Hou PC, Filbin MR, Wang H, Ngo L, Aird WC, Shapiro NI, et al. Endothelial Permeability and Hemostasis in Septic Shock: Results From the ProCESS Trial. *Chest* [Internet]. 2017;152(1):22–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chest.2017.01.010>
163. Day DE, Oedorf K, Kogan S, Novack V, Sanchez LD, Wolfe RE, et al. The Utility of Inflammatory and Endothelial Markers to Identify Infection in Emergency Department Patients. *Shock.* 2015;44(3):215–20.
164. Hou PC, Filbin MR, Wang H, Ngo L, Aird WC, Shapiro NI, et al. Endothelial Permeability and Hemostasis in Septic Shock: Results From the ProCESS Trial. Vol. 152, *Chest.* 2017. p. 22–31.
165. Greco M, Suppressa S, Lazzari RA, Sicuro F, Catanese C, Lobreglio G. sFlt-1 and CA 15.3 are indicators of endothelial damage and pulmonary fibrosis in SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep.* 2021;11(1):1–9.
166. Espino-y-Sosa S, Martinez-Portilla RJ, Torres-Torres J, Solis-Paredes JM, Estrada-Gutierrez G, Hernandez-Pacheco JA, et al. Novel Ratio Soluble Fms-like Tyrosine Kinase-1/Angiotensin-II (sFlt-1/ANG-II) in Pregnant Women Is Associated with Critical Illness in COVID-19. *Viruses.* 2021 Sep 23;13(10):1906.
167. Torres-Torres J, Espino-y-Sosa S, Poon LC, Solis-Paredes JM, Estrada-Gutierrez G, Espejel-Nuñez A, et al. Increased levels of soluble fms-like tyrosine kinase-1 are associated with adverse outcome in pregnant women with COVID-19. Vol. 59, *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.* 2022. p. 202–8.
168. Bellavia D, Iacovoni A, Scardulla C, Moja L, Pilato M, Kushwaha SS, et al. Prediction of right ventricular failure after ventricular assist device implant: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Heart Fail.* 2017;19(7):926–46.
169. Page A V., Conrad Liles W. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. *Virulence.* 2013;4(6).
170. Alves BE, Montalvao SAL, Aranha FJP, Lorand-Metze I, De Souza CA, Annichino-Bizzacchi JM, et al. Time-course of sFlt-1 and VEGF-A release in neutropenic patients with sepsis and septic shock: A prospective

- study. *J Transl Med* [Internet]. 2011;9(1):23. Available from: <http://www.translational-medicine.com/content/9/1/23>
171. Antcliffe DB, Burrell A, Boyle AJ, Gordon AC, McAuley DF, Silversides J. Sepsis subphenotypes, theragnostics and personalized sepsis care. *Intensive Care Med* [Internet]. 2025; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-025-07873-6>
172. Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, Chang C-CH, Elliott CF, Xu Z, et al. Derivation, Validation, and Potential Treatment Implications of Novel Clinical Phenotypes for Sepsis. *JAMA* [Internet]. 2019 May 28;321(20):2003–17. Available from: <https://doi.org/10.1001/jama.2019.5791>
173. Antcliffe DB, Burnham KL, Al-Beidh F, Santhakumaran S, Brett SJ, Hinds CJ, et al. Transcriptomic Signatures in Sepsis and a Differential Response to Steroids. From the VANISH Randomized Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Apr;199(8):980–6.
174. Parikh SM. Dysregulation of the angiopoietin-Tie-2 axis in sepsis and ARDS. *Virulence*. 2013 Aug;4(6):517–24.
175. van der Heijden M, van Nieuw Amerongen GP, Koolwijk P, van Hinsbergh VWM, Groeneveld ABJ.
- Angiopoietin-2, permeability oedema, occurrence and severity of ALI/ARDS in septic and non-septic critically ill patients. *Thorax*. 2008 Oct;63(10):903–9.
176. Shapiro NI, Schuetz P, Yano K, Sorasaki M, Parikh SM, Jones AE, et al. The association of endothelial cell signaling, severity of illness, and organ dysfunction in sepsis. *Crit Care*. 2010;14(5):R182.
177. Luo X, Zhou W, Yan X, Guo T, Wang B, Xia H, et al. Prognostic Value of C-Reactive Protein in Patients With Coronavirus 2019. *Clin Infect Dis* an Off Publ Infect Dis Soc Am. 2020 Nov;71(16):2174–9.
178. Schuetz P, Chiappa V, Briel M, Greenwald JL. Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions: a systematic review of randomized controlled trials and recommendations for clinical algorithms. *Arch Intern Med*. 2011 Aug;171(15):1322–31.
179. de Lózar de la Viña A, Andrade Vivero G, Palencia Herrejón E, Márquez Liétor E, Talaván Zanón T, Pérez-Fernández E, et al. The utility of an algorithm based on procalcitonin monitoring in patients with sepsis. *Lab Med* [Internet]. 2024 Oct 24;Imae074. Available from: <https://doi.org/10.1093/labmed/Imae074>
180. Ramasco F, Aguilar G, Aldecoa C,

- Bakker J, Carmona P, Dominguez D, et al. Towards the personalization of septic shock resuscitation: the fundamentals of ANDROMEDA-SHOCK-2 trial. *Rev Esp Anestesiol Reanim.* 2024 Feb;71(2):112–24.
181. Nolt B, Tu F, Wang X, Ha T, Winter R, Williams DL, et al. Lactate and Immunosuppression in Sepsis. *Shock.* 2018 Feb;49(2):120–5.
182. Amato MBP, Carvalho CRR, Isola A, Vieira S, Rotman V, Moock M, et al. [Mechanical ventilation in Acute Lung Injury (ALI)/Acute Respiratory Discomfort Syndrome (ARDS)]. *J Bras Pneumol publicacao Of da Soc Bras Pneumol e Tisiologia.* 2007;33 Suppl 2:S119-27.
183. Ugalde MJ, Caballero A, Martín Fernández M, Tamayo E, de la Varga-Martínez O. Value of the biomarker soluble tyrosine kinase 1 type fms (sFLT-1) in the diagnosis and prognosis of sepsis: a systematic review. *Med Clin (Barc).* 2024 Sep;163(5):224–31.

10 Anexos

Publicaciones

Publicación 1. Value of the biomarker soluble tyrosine kinase 1 type fms (sFLT-1) in the diagnosis and prognosis of sepsis: a systematic review (183).



Original

Valor del biomarcador tirosina quinasa 1 soluble tipo fms (sFLT-1) en el diagnóstico y pronóstico de la sepsis: una revisión sistemática



Miguel Javier Ugalde^{a,*}, Alberto Caballero^b, Marta Martín Fernández^{c,d,e}, Eduardo Tamayo^{d,e,f,1} y Olga de la Varga-Martínez^{d,g,1}

^a Cuidados intensivos, Hospital Santa Bárbara de Soria, Soria, España

^b Department of Anatomy and Radiology, Health Sciences Faculty, GIR: Physical Exercise and Aging, Campus Universitario Los Pajaritos, University of Valladolid Soria, España

^c Department of Cellular Biology, Genetics, Histology and Pharmacology, University of Valladolid, Valladolid, España

^d BioCritic, Group for Biomedical Research in Critical Care Medicine, Valladolid, España

^e Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

^f Anestesia y Cuidados intensivos, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España

^g Anestesiología y Reanimación, Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 21 de septiembre de 2023

Aceptado el 27 de marzo de 2024

On-line el 8 de junio de 2024

Palabras clave:

Sepsis

Biomarcador

sFLT-1

Revisión sistemática

RESUMEN

Introducción: La presente revisión sistemática analiza el papel de *soluble fms-like tyrosine kinase-1* (sFLT-1) como biomarcador indirecto de disfunción endotelial en sepsis o shock séptico de artículos publicados en PubMed entre 2010 y marzo de 2022.

Material y métodos: Se ha realizado una revisión sistemática de estudios estudiando la monitorización de sFLT-1 en unidades de cuidados intensivos en adultos con sepsis o shock séptico vs. controles para diagnóstico y pronóstico de sepsis (Registro PROSPERO CRD42023412929).

Resultados: La disfunción endotelial de la sepsis es una de las claves para el desarrollo de la enfermedad. VEGF se une a sFLT-1 actuando como un inhibidor competitivo de la señalización del VEGF en las células endoteliales y, por lo tanto, neutraliza sus efectos proinflamatorios. La disfunción endotelial se ve reflejada en el aumento de los valores de sFLT-1. Los valores elevados de sFLT-1 se emplearon para el diagnóstico diferencial de la sepsis frente a otras patologías inflamatorias, el shock séptico frente a otros tipos de shock; en un análisis ajustado, estuvieron elevados a lo largo del tiempo, estimación del pronóstico de la enfermedad, correlación con la gravedad de la sepsis, la disfunción orgánica y predicción de mortalidad.

Conclusiones: Se evidencia como la sepsis se fundamenta en la disfunción endotelial. sFLT-1 es uno de los principales biomarcadores de alteración microvascular y resulta biomarcador predictivo diagnóstico y pronóstico.

© 2024 El Autor(s). Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Value of the biomarker soluble tyrosine kinase 1 type fms (sFLT-1) in the diagnosis and prognosis of sepsis: a systematic review

ABSTRACT

Introduction: The present systematic review analyses the role of soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFLT-1) as an indirect biomarker of endothelial dysfunction in sepsis or septic shock from articles published in PubMed between 2010 and March 2022.

Materials and methods: A systematic review of studies studying sFLT-1 monitoring in intensive care units in adults with sepsis or septic shock vs. controls for sepsis diagnosis and prognosis has been carried out (PROSPERO CRD42023412929 Registry).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mjugalde@saludcastillayleon.es (M.J. Ugalde).

¹ Misma colaboración.

Results: The endothelial dysfunction of sepsis is one of the keys to the development of the disease. VEGF binds to sFLT-1 acting as a competitive inhibitor of VEGF signalling in endothelial cells and thus neutralizes its pro-inflammatory effects. Endothelial dysfunction is reflected in increased sFLT-1 levels. High values of sFLT-1 were used for the differential diagnosis of sepsis versus other inflammatory pathologies, septic shock versus other types of shock, were elevated over time, estimation of disease prognosis, correlation with sepsis severity, organ dysfunction, and mortality prediction.

Conclusions: It is evident that sepsis is based on endothelial dysfunction. sFLT-1 is one of the main biomarkers of microvascular alteration and is a predictive diagnostic and prognostic biomarker.

© 2024 The Author(s). Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introducción

La sepsis se define como disfunción orgánica grave, y potencialmente mortal, secundaria a una desregulación del sistema inmune frente a una infección¹. Un estudio reciente del *Institute for Health Metrics and Evaluation* (IHME) sobre la carga global de sepsis estima una incidencia de 48,9 millones con una mortalidad de 11 millones en todo el mundo en 2017, rondando los 24.000 millones de dólares de coste anual en EE.UU.².

La sepsis se produce por una reacción generalizada a partir de una lesión local no controlada, produciendo lo que en la clasificación SEPSIS-2 se denominaba SIRS (síndrome respuesta inflamatoria sistémica). Dicho fenómeno no es del todo conocido, aunque dependerá fundamentalmente del microorganismo y la forma de respuesta del huésped.

Actualmente el tratamiento de la sepsis se basa en una triple terapia protagonizada por la antibioterapia precoz, control del foco y soporte hemodinámico por objetivos³.

Por la gran mortalidad y repercusión económica de los pacientes con sepsis¹, así como la elevada alza de bacterias multirresistentes⁴, es de especial interés la búsqueda de nuevos marcadores más sensibles y específicos que los que se presentan en la actualidad. Tal y como Tan et al.⁵ describen en su metaanálisis, la PCR y PCT presentan un valor grado moderado para el diagnóstico de sepsis en pacientes adultos. Para la PCR objetivaron una AUC 0,73 (IC95%, 0,69-0,77), con una sensibilidad y especificidad de 0,80 (IC95%, 0,63-0,90) y 0,61 (IC95%, 0,50-0,72), respectivamente. En cuanto a la PCT presentó una AUC de 0,85 (IC95%, 0,82-0,88), con una sensibilidad y especificidad de 0,80 (IC95%, 0,69-0,87) y 0,77 (IC95%, 0,60-0,88). Dichos resultados ponen en valor la necesidad de encontrar biomarcadores más discriminativos.

A nivel molecular se ha descrito la disfunción endotelial como una de las causas del paso de la infección localizada a la presentación de repercusiones sistémicas. Entre las múltiples causas de disfunción endotelial destaca la fisiopatología del déficit de neoangiogénesis mediado por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)⁶.

El VEGF es un regulador clave de angiogénesis normal, durante la cual promueve las células endoteliales supervivencia, crecimiento y migración. Los efectos de VEGF están mediados por dos receptores: el receptor de tirosina quinasa 1 tipo FMS (FLT-1) o el receptor de tirosina quinasa similar a FMS (FLK-1). *Soluble fms-like tyrosine kinase-1* (sFLT-1) puede actuar para secuestrar VEGF y evitar la unión a FLK-1, que es capaz de transducir una señal mucho más fuerte, inhibiendo así la unión de VEGF y su efecto vasodilatador y neoangiogénico⁷.

Tal y como hemos mencionado, la neoangiogénesis juega un papel fundamental en la disfunción endotelial. Dicho fenómeno surge del equilibrio entre una variedad de factores proangiogénicos (VEGF, PIGF) y antiangiogénicos (sFLT-1)⁶.

Dada la gran dificultad para evaluar de forma directa la disfunción endotelial, el objetivo de la bioquímica moderna será averiguar distintos biomarcadores indirectos que nos permitan evaluar las posibles interacciones que tienen lugar a nivel molecular.

Hasta la actualidad numerosos estudios de cohortes han evaluado este biomarcador en sepsis o shock séptico. Confirmar la relevancia de dicho biomarcador podría suponer un antes y un después en el diagnóstico precoz de la sepsis, así como ser un biomarcador de seguimiento para dicha patología, predicción de mortalidad y desescalada antibiótica, entre otros papeles.

Por lo tanto, el objetivo de nuestra revisión sistemática es evaluar el valor pronóstico al inicio de la sepsis de sFLT-1 en pacientes adultos con sepsis o shock séptico.

Material y métodos

Recuperación de bibliografía

Se realizó una revisión sistemática del biomarcador sFLT-1, de acuerdo con la declaración *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA 2020). Se realizaron búsquedas en la base de datos PubMed desde el año 2010 hasta marzo de 2022. Como estrategia de búsqueda se emplearon los siguientes términos: Búsqueda avanzada sFLT-1 [All Fields] AND («sepsis»[MeSH Terms] OR «sepsis»[All Fields]). El protocolo de la presente revisión se registró en el *International Prospective Register of Systematic Reviews* «PROSPERO» (CRD42023412929).

Criterios de elegibilidad

Las preguntas de revisión se desarrollaron de acuerdo con el marco PICO (Participante, intervenciones, comparaciones, resultados y diseño de estudios):

Participantes: Pacientes de 19 años o más que presentaron sepsis o shock séptico.

Intervención: Prueba diagnóstica y pronóstica.

Comparación: No se aplicó ninguna restricción sobre el grupo control.

Resultado: Comparativa de biomarcadores frente a controles sanos, diagnóstico diferencial frente a otras patologías, relación con la disfunción orgánica, gravedad y pronóstico.

Diseño del estudio: Ensayo clínico, cuasiexperimental, casos y controles, cohortes.

Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron solo aquellos textos publicados en inglés y que fueran originales. Se limitaron los resultados a pacientes adultos en sepsis y shock séptico, eliminando las revisiones sistemáticas y metaanálisis. Por la gran importancia y relación que tiene con la sepsis, se incluyeron aquellos artículos que incluían pacientes con neumonía por COVID 19.

Cribado de la bibliografía

Las publicaciones se examinaron inicialmente por título y resumen y, posteriormente, por texto completo. Las decisiones con respecto a la inclusión y exclusión de estudios se tomaron de forma

independiente por parte de dos revisores y cualquier discrepancia se resolvió mediante discusión. Si no se pudo llegar a un consenso, la adjudicación fue proporcionada por un tercer revisor.

Extracción de datos y evaluación de la calidad

Información general como autor, año de publicación, número y características de los casos y controles, tipo de biomarcador, etc., e información de parámetros de diagnóstico como riesgo relativo, odds ratio, intervalos de confianza, área bajo la curva, sensibilidad, especificidad, falsos positivos, falsos negativos, etc. Se documentaron autor y año de publicación. Se consideraron los siguientes desenlaces de interés: valores según patologías, disfunción orgánica, entre otras.

Resultados

La búsqueda bibliográfica en PubMed recuperó un total de 27 artículos. Se eliminaron 3 artículos anteriores a 2010 y uno por no ser en inglés. Se eliminó una revisión sistemática y 6 artículos por ser en pacientes menores de 19 años. Por último, 4 fueron eliminados por analizar el biomarcador como predictor de sepsis neonatal y uno por estudiar pancreatitis aguda. Finalmente, 11 artículos fueron incluidos en esta revisión (fig. 1).

De los 11 artículos finalmente seleccionados, 10 de ellos fueron observacionales prospectivos. De estos, uno ha sido de casos y controles y los 9 restantes, de cohortes, entre los que se destacan 2 estudios de cohortes prospectivos multicéntricos. El artículo restante analizado ha sido un ensayo clínico. Como común denominador, en todos los estudios incluidos se tomaron muestras de sangre al ingreso del paciente para la determinación de biomarcadores.

Los aspectos principalmente analizados han sido: los valores frente a los controles, el diagnóstico diferencial frente a otras patologías, la relación con la disfunción orgánica, la gravedad de la sepsis y la mortalidad. El número de pacientes en estos estudios varió de 41 a 605, presentando edad mínima de 18 años, así como múltiples patologías. Para determinar mejor el valor pronóstico de los biomarcadores, se analizaron las AUC, OR y las cifras de significación estadística.

Los valores de sFLT-1 se analizaron utilizando kits de inmunooanálisis ya comercializados tipo ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*). Se emplearon los umbrales 136,2 (96,3-211) para los controles sanos, con una AUC = 0,70.

Schuetz et.al.⁸ plantean el estudio de biomarcadores para el diagnóstico diferencial de shock en urgencias. Para ello obtienen dos grupos: sepsis vs. shock de causa no séptica. sFLT-1 (227,4; 142,4-328,2) vs. (136,2; 96,3-211) $p < 0,001$. E-selectina (53,2; 34,9-79,2) vs. (30,5; 20,0-40,8) $p < 0,001$. ICAM-1 (2; 152-267) vs. (149; 115-224) $p = 0,04$. VEGF (271; 91-496) vs. (118; 43-270) $p = 0,01$. PAI-1 no significativo.

En cuanto a las AUC se describieron como estadísticamente significativos: sFLT-1 0,70 (2,01; 1,07-3,79) $p = 0,03$ y E-selectina 0,74 (3,67; 1,72-7,84) $p = 0,001$, mientras que el resto de los biomarcadores analizados fueron no significativos.

Day et.al.⁹ realizaron la identificación de biomarcadores para el diagnóstico diferencial entre shock séptico y otras causas de shock. Para ellos obtuvo significación estadística para los siguientes biomarcadores: sFLT-1 (0,51 vs. 1,48; $p = 0,03$), E-selectina (1,75 vs. 1,97; $p < 0,01$), sICAM-1 (2,29 vs. 2,5; $p < 0,01$), PAI-1 (1,77 vs. 2,06 $p < 0,01$), IL-6 (1,14 vs. 2,05 $p < 0,01$) y procalcitonina (-0,8 vs. 0,31 $p < 0,01$). Se emplearon AUC para discriminar la capacidad diagnóstica empleando los parámetros clínicos como referencia (AUC 0,76, IC95% 0,67-0,85, $p < 0,01$), biomarcadores (AUC 0,82, IC95% 0,75-

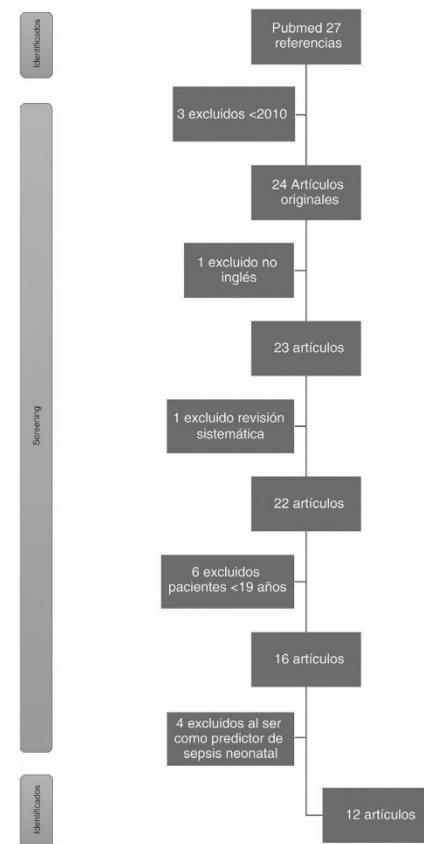


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de selección de estudios de acuerdo con las pautas de *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses* (PRISMA).

0,90, $p < 0,01$) y el uso conjunto de clínica y biomarcadores (AUC 0,88, IC95% 0,81-0,94, $p < 0,01$).

Skibsted et.al.¹⁰ analizaron la tendencia entre grupos (sepsis, sepsis severa y shock séptico) presentando unos valores de sFLT-1 ($p < 0,0001$), sE-selectina ($p < 0,001$), sVCAM-1 ($p < 0,002$), PAI-1 ($p < 0,001$) y sICAM-1 ($p < 0,001$). En cuanto a su relación con la escala SOFA, se correlacionó sFLT-1 ($r = 0,6$) y PAI-1 ($r = 0,4$), sE-selectina ($r = 0,3$) todas ellas con $p < 0,0001$ salvo sICAM-1 ($r = 0,15$) que mostró $p = 0,03$. Todos los biomarcadores se correlacionaron con IL-6, especialmente sFLT-1 ($r = 0,63$, $p < 0,0001$). En cuanto a la escala APACHE-II, se demostró la correlación con sFLT-1 ($r = 0,64$), PAI-1 ($r = 0,58$), sE-selectina ($r = 0,31$), sVCAM-1 ($r = 0,38$) todas ellas $p < 0,0001$ salvo sICAM-1 ($r = 0,17$, $p < 0,05$).

Para evaluar aún más la precisión de los diferentes marcadores extraídos en urgencias se analizó la mortalidad intrahospitalaria mediante AUC. sFLT-1 (0,87; 0,79-0,95), PAI-1 (0,87; 0,78-0,95), sE-selectina (0,77; 0,69-0,85), ICAM (0,71; 0,60-0,81), sVCAM-1 (0,78; 0,68-0,89) todos ellos $p < 0,05$ salvo IL-6 (0,80; 0,69-0,91, $p = 0,54$).

primer lugar. En cuanto al papel de la patología microvascular, es obvio que forma parte de muchas patologías entre las que se destaca la sepsis. En ese sentido, los estudios muestran direccionalidad entre patología infecciosa vs. no infecciosa y gravedad según los biomarcadores empleados. El hecho de presentar estudios heterogéneos podría suponer un hándicap, pero interpretamos que es un beneficio ya que muestra distintos tipos de pacientes (pacientes en urgencias, UCI, neutropénicos, diabéticos, COVID-19 y embarazadas) en los que se demuestra el papel de sFLT-1 en la disfunción endotelial de la sepsis, lo que resulta beneficioso de cara a generalizar a toda la población. En esa línea resulta interesante que los resultados no dependen del momento de la extracción de la muestra, sino que permanece inalterable la relación entre biomarcadores y gravedad. Por todo lo citado anteriormente se señala la importancia de la incorporación de sFLT-1 en la práctica clínica, ya que añade información a los criterios clínicos y biomarcadores actuales.

Las nuevas teorías van a favor del uso de fármacos cuyas dianas terapéuticas sean específicas de la inflamación, respuesta inmune o disfunción endotelial. La primera de todas es la que más se ha desarrollado hasta ahora, sobre todo en patologías autoinmunes, aumentando el número de dianas terapéuticas más allá de la corticoterapia. En esa línea un potencial estudio que se podría plantear es el papel de sFLT-1 en los pacientes en tratamiento activo con hidrocortisona en casos de shock séptico refractorio, asumiendo el sesgo de inclusión de pacientes más graves. De este modo se podría analizar el papel de los tratamientos antiinflamatorios como predictores de cambio en los biomarcadores.

Conclusión

El grado de presencia de sFLT-1 es relevante en el diagnóstico diferencial entre sepsis y otras patologías, para detectar el grado de gravedad del proceso infeccioso y para la evaluación de la mortalidad en pacientes en shock séptico.

Su detección y análisis son factibles para un uso clínico generalizado, sirviendo como nexo para la identificación de nuevos biomarcadores (o nuevas combinaciones o correlaciones entre biomarcadores ya conocidos) para el diagnóstico precoz de la alteración endotelial ya que representarán un antes y después en el pronóstico de la disfunción orgánica, permitiendo así un tratamiento más rápido, más preciso y, con ello, más eficaz.

Financiación

Apoyado por la Caja Rural de Soria para la redacción del artículo. El Instituto de Salud Carlos III (IIS, CIBERINFEC CB21/13/00051), Junta de Castilla y León (GRS 2425/A/ 21 GRS 2399/A/ 21, GRS 1922/A/19, GRS 2057/A/19), Fundación Ramón Areces (CIVP19A5953).

Contribución de los autores

Miguel Ugalde Azpiazu: concepción y diseño del estudio, adquisición de datos, análisis e interpretación de los datos, redacción del borrador del artículo, aprobación definitiva de la versión que se presenta.

Alberto Caballero: concepción y diseño del estudio, redacción del borrador del artículo, revisión crítica del contenido intelectual, aprobación definitiva de la versión que se presenta.

Marta Martín: diseño y ejecución de la estrategia de búsqueda bibliográfica, adquisición de datos.

Eduardo Tamayo: adquisición de datos, análisis e interpretación de los datos, redacción del borrador del artículo, revisión crítica del contenido intelectual, aprobación definitiva de la versión que se presenta.

Olga de la Varga: adquisición de datos, análisis e interpretación de los datos, redacción del borrador del artículo, revisión crítica del contenido intelectual, aprobación definitiva de la versión que se presenta.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen potenciales conflictos de interés con respecto a la investigación y/o autoría del presente manuscrito.

Agradecimientos

Instituto de Ciencias de la Salud de Castilla y León (ICSCYL).

Bibliografía

- Wurdean SR, Stevens PM, Campbell JH, Davie-Smith F, Coulter E, Kennon B, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Physiol Behav*. 2017;176:498–503. <http://dx.doi.org/10.1001/jamia.2016.0287>.
- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsui D, Kievan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020;395:200–11. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32989-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32989-7).
- Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2001;345:1368–77.
- Hawkey PM, Warren RE, Livermore DM, McNulty CAM, Enoch DA, Otter JA, et al. Treatment of infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria: Report of the British society for antimicrobial chemotherapy/heathcare infection society/british infection association joint working party. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73:i11–78. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dky027>.
- Tan M, Lu Y, Jiang H, Zhang L. The diagnostic accuracy of procalcitonin and C-reactive protein for sepsis: A systematic review and meta-analysis. *J Cell Biochem*. 2019;120:5852–9. <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.27870>.
- Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111:649–58. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI17189>.
- Page AV, Liles WC. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. *Virulence*. 2013;4:507–16. <http://dx.doi.org/10.4161/viru.24530>.
- Schuetz P, Jones AE, Aird WC, Shapiro NI. Endothelial cell activation in emergency department patients with sepsis-related and non-sepsis-related hypotension. *Shock*. 2011;36:104–8. <http://dx.doi.org/10.1097/SHK.0b013e31821e4e04>.
- Day DE, Oedorf K, Kogan S, Novack V, Sanchez LD, Wolfe RE, et al. The Utility of Inflammatory and Endothelial Markers to Identify Infection in Emergency Department Patients. *Shock*. 2015;44:215–20. <http://dx.doi.org/10.1097/SHK.0b013e31829030d>.
- Hou PC, Filbin MR, Wang H, Ngo L, Huang DT, Aird WC, et al. ProCESS Investigators. Endothelial Permeability and Hemostasis in Septic Shock: Results From the ProCESS Trial. *Chest*. 2017;152:22–31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chest.2017.01.010>.
- Alves BE, Montalvao SAL, Aranha FJP, Lorand-Metzger I, De Souza CA, Annichino-Bizzacchi JM, et al. Time-course of sFlt-1 and VEGF-A release in neutropenic patients with sepsis and septic shock: A prospective study. *J Transl Med*. 2011;9:1–8. <http://dx.doi.org/10.1186/1479-5876-9-23>.
- Flisa MM, Costa-Lima C, de Souza GR, Vigorito AC, Penteado Aranha FJ, Lorand-Metzger I, et al. A high angiopoietin-2/angiopoietin-1 ratio is associated with a high risk of septic shock in patients with febrile neutropenia. *Crit Care*. 2013;17:1–10. <http://dx.doi.org/10.1186/cc12848>.
- Schuetz P, Yano K, Sorasaki M, Ngo L, St Hilaire M, Lucas JM, et al. Influence of diabetes on endothelial cell response during sepsis. *Diabetologia*. 2011;54:996–1003. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-011-2059-y>.
- Skibsted S, Arnold R, Sherwin R, Singh S, Lundy D, Nelson T, et al. The association of near infrared spectroscopy-derived StO2 measurements and biomarkers of endothelial activation in sepsis. *Intern Emerg Med*. 2013;8:529–36. <http://dx.doi.org/10.1007/s11739-013-0973-3>.
- Greco M, Supressa S, Lazzari RA, Sícuoro F, Catanese C, Lobreglio G. sFlt-1 and CA 15.3 are indicators of endothelial damage and pulmonary fibrosis in SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep*. 2021;11:1–9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-99470-y>.
- Espino-y-Sosa S, Martínez-Portilla RJ, Torres-Torres J, Solis-Paredes JM, Estrada-Gutiérrez G, Hernández-Pacheco JA, et al. Novel Ratio Soluble Fms-like Tyrosine Kinase-1/Angiotensin-II (sFlt-1/ANG-II) in Pregnant Women Is Associated with Critical Illness in COVID-19. *Viruses*. 2021;13:1906. <http://dx.doi.org/10.3390/v13101906>.

Tabla 3
sFLT-1 como biomarcador diagnóstico y de gravedad en neumonía por SARS-CoV-2

Autor	Año	Diseño	Pacientes	Hallazgos
Greco et al. ¹⁶	2021	Estudio cohortes prospectivo	262 pacientes hospitalizados por neumonía COVID vs. 101 controles sanos	Valores séricos de sFLT-1 resultaron significativos para el diagnóstico de neumonía COVID-19 vs. sujetos sanos, así como la estratificación de la gravedad del cuadro. En cuanto a CA 15.3, resultó significativo para predicción de fibrosis pulmonar
Espino-y-Sosa et al. ¹⁷	2021	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	80 mujeres embarazadas COVID positivas. COVID grave (n = 25) y no grave (n = 55) en urgencias	Se describe un aumento de sFLT-1 y del cociente sFLT1/ANG-II como predictores de gravedad, así como de complicaciones
Torres-Torres et al. ¹⁸	2022	Estudio cohortes prospectivo	113 embarazadas COVID+. COVID no grave (n = 82), COVID grave (n = 31) en urgencias	Los valores de sFLT-1 se asociaron con gravedad de enfermedad, así como aumento de complicaciones

artículos identificó la diabetes como un factor añadido a la alteración endotelial objetivando que, en estos pacientes, se produce un incremento significativo adicional de sFLT1¹⁴. En este caso, no se analizó el pronóstico de dichos pacientes realizando análisis multivariante diabetes-biomarcador-pronóstico, motivo por el cual, su estudio, resultaría de gran interés clínico.

Uno de los criterios de exclusión que presentan gran parte de los artículos es la inmunodepresión de predominio secundaria a patología tumoral, hematológica, diabética, iatrogénica, etc. Por este motivo los artículos que van a ser descritos a continuación resultan especialmente interesantes para el devenir del uso de sFLT-1.

En primer lugar, se comparó sepsis vs. shock séptico en pacientes neutropénicos de causa hematológica, no presentando diferencias en los valores de sFLT-1; sin embargo, a las 48 h en los pacientes con shock séptico el aumento fue marcado. Resulta interesante la correlación entre SOFA y sFLT-1¹².

Los valores de sFLT-1 resultaron no significativos y discreparon con el artículo anterior, aunque el cociente que sí fue de interés fue el Ang-1/Ang-2 que sí fue significativo¹³. Resulta mandatorio realizar más estudios en esta población dado que en pacientes inmunodeprimidos los resultados de los estudios resultan contradictorios. Del mismo modo, una de las limitaciones de esta revisión se centra en el papel único de la neutropenia febril secundaria a quimioterapia en el cáncer, ya que no se estudian otras causas de neutropenia febril de causa no iatrogénica.

En el artículo¹⁴, se comparan biomarcadores en pacientes diabéticos con sepsis, sepsis severa y shock séptico. Los resultados muestran que sFLT-1 es positivo en pacientes diabéticos y en aquellos con sepsis más grave. Esto sugiere que la diabetes es un factor añadido a la alteración endotelial en la sepsis.

En cuanto a la mortalidad vale la pena destacar la capacidad de predicción de mortalidad intrahospitalaria de sFLT-1 al ser analizado en urgencias¹⁰, así como su nivel basal, a las 6 h, a las 24 h, independientemente de la estrategia de resuscitación hemodinámica empleada (que no resultó diferencial el cambio de biomarcadores)¹¹. El cociente Ang-1/Ang-2 mostró un ratio significativo para el riesgo relativo de fallecer a los 28 días, no así el sFLT-1¹³.

La pandemia de COVID-19 ha demostrado que el virus SARS-CoV-2 induce disfunción endotelial, lo que puede conducir a una neumonía intersticial viral. Los estudios han demostrado que los valores de sFLT-1, un biomarcador de la disfunción endotelial, son elevados en pacientes con COVID-19, y que los valores más altos se asocian con una enfermedad más grave.

En particular, los estudios han demostrado que:

- En pacientes no embarazadas con COVID-19, los valores de sFLT-1 aumentan con la gravedad de la enfermedad y se asocian con un mayor riesgo de mortalidad¹⁶.

- En mujeres embarazadas con COVID-19, los valores de sFLT-1 también aumentan con la gravedad de la enfermedad y se asocian con un mayor riesgo de neumonía grave, ingreso en UCI, intubación, sepsis viral y muerte materna¹⁷.
- En mujeres embarazadas con COVID-19, el ratio sFLT-1/ANG-II también aumenta con la gravedad de la enfermedad, pero no se asocia con un mayor riesgo de preeclampsia¹⁸.

Estos hallazgos sugieren que sFLT-1 podría ser un biomarcador útil para la evaluación de la gravedad de la COVID-19 y para la identificación de pacientes con un mayor riesgo de complicaciones.

Skibsted et al. comparan el uso de biomarcadores frente al análisis de oxigenación a pie de cama con sistemas NIRS, desestimando este procedimiento ante la discrepancia con los biomarcadores y la dificultad técnica¹⁵.

Respecto a las limitaciones del estudio, podríamos citar la falta de análisis estadístico debido a la gran variabilidad de los datos ofrecidos por las diversas publicaciones trabajadas. Aunque a priori podría parecer un limitador de cara a generalizar, resulta interesante que en todos los estudios relacionan sFLT-1 como sepsis, gravedad y pronóstico desde enfoques distintos. Schuetz et al.⁸ plantean el estudio de biomarcadores para el diagnóstico diferencial de shock en urgencias, la falta de discriminación de los estudios en relación con el foco primario de la sepsis^{8,9}, la falta de descripción entre las diferentes causas de sepsis, así como diferenciar las causas de otros tipos de shock en los grupos control⁹.

Day et al.⁹ identificaron biomarcadores para el diagnóstico diferencial entre shock séptico y otras causas de shock. Sin embargo, los estudios presentaron sesgos de selección de pacientes, como una población reducida, unicéntrica, así como criterios de inclusión restrictivos. Además, la mayoría de los estudios solo midieron los biomarcadores en un momento puntual, lo que podría limitar su utilidad clínica.

Es importante señalar que los biomarcadores no miden el daño endotelial de forma directa sino indirectamente. Por lo que se podría caer en un sesgo de confusión en el que los biomarcadores indirectos resultaran significativos y no se produjera una disfunción endotelial in situ, aunque esta última opción no resulta muy factible.

Por último, todos los artículos resultan significativos por lo que llevarlo a cabo en una muestra propia podría indicarnos si se presenta sesgo de publicación. Derivado del presente trabajo podemos afirmar que sería de muy alto interés la realización, en un futuro próximo, de los estudios correspondientes que permitieran concretar no solo los valores pronóstico, sino también su incorporación en escalas de predicción de complicaciones nosocomiales y la morbilidad.

Tras sintetizar de forma pormenorizada todos los artículos resulta evidente el papel de sFLT-1 en la disfunción endotelial en

Tabla 1
sFLT-1 como biomarcador de clasificación de gravedad

Autor	Año	Diseño	Pacientes	Hallazgos
Alves et al. ¹²	2011	Estudio cohortes prospectivo	41 pacientes con fiebre neutropénica. Shock séptico (n=31) vs. sepsis (n=10) en UCI	En el momento del inicio de la fiebre no hay diferencias estadísticas significativas entre valores de sFLT-1 y VEGF-A. Sin embargo, después de 48 h, los valores de VEGF-A y sFLT-1 fueron mayores de forma estadísticamente significativa en shock séptico
Schuetz et al. ¹⁴	2011	Casos y controles prospectivo	207 pacientes. Sépticos (n=70), sepsis severa (n=66), shock séptico (n=71), en pacientes diabéticos (n=63) frente no diabéticos (n=144) en UCI	Pacientes con diabetes presentan valores mayores de E-selectina y sFLT-1, así como si se compara la sepsis vs. shock séptico. ICAM-1, VCAM y PAI-1 no fueron en ningún caso significativos
Skibsted ¹⁰	2013	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	166 pacientes con sepsis (n=63), sepsis grave (n=61) y shock séptico (n=42) en UCI	sFLT-1, E-selectina, sVCAM-1, PAI-1 y sICAM-1 se correlacionó con la escala SOFA, IL-6 y la escala APACHE II salvo sICAM-1
Fiusa et al. ¹³	2013	Estudio cohortes prospectivo	99 pacientes fiebre neutropénica. Shock séptico (n=20), no complicados (n=79) en UCI	Los valores de VEGF-A y sFLT-1 fueron similares entre pacientes en shock séptico vs. sepsis no complicada La concentración de Ang-2 aumentó en pacientes con shock séptico. Sin embargo, valores de VEGF-A y sFLT-1 fueron similares
Skibsted et al. ¹⁵	2013	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	186 pacientes en urgencias con sepsis (n=64), shock séptico (n=61) y controles no infectados (n=61)	El uso de la técnica (NIRS) no presenta correlación con ninguno de los biomarcadores analizados en el subgrupo de sepsis
Schuetz et al. ⁸	2014	Estudio cohortes prospectivo	161 pacientes hipotensos en urgencias. Sepsis (n=69), no sepsis (n=92)	sFLT-1, E-selectina, ICAM-1 y VEGF fueron estadísticamente significativos para el diagnóstico diferencial del shock séptico vs. otras causas de shock
Day et al. ⁹	2015	Estudio cohortes prospectivo	115 pacientes hipotensos en urgencias. Sepsis (n=49), no sepsis (n=66)	Aumento significativo en sepsis de sFLT-1, e-selectina, sICAM-1, PAI-1, IL-6 y procalcitonina El uso de biomarcadores aumentó el AUC para el diagnóstico diferencial de sepsis vs. el uso exclusivo de la clínica
Hou et al. ¹¹	2017	Ensayo clínico multicéntrico	605 pacientes en shock séptico en urgencias	La resucitación guiada por objetivos no demostró diferencias en los biomarcadores frente a la terapia estándar de resucitación

Tabla 2
sFLT-1 como biomarcador de mortalidad

Autor	Año	Diseño	Pacientes	Hallazgos
Skibsted et al. ¹⁰	2013	Estudio cohortes prospectivo multicéntrico	166 pacientes con sepsis (n=63), sepsis grave (n=61) y shock séptico (n=42) en UCI	Los biomarcadores sFLT-1, sE-selectin, ICAM y sVCAM-1 se demuestran predictores de mortalidad intrahospitalaria
Fiusa et al. ¹³	2013	Estudio cohortes prospectivo	99 pacientes fiebre neutropénica. Shock séptico (n=20), no complicados (n=79) en UCI	El cociente Ang-2/Ang-1 se presenta como biomarcador de aumento del riesgo de fallecer a los 28 días
Hou et al. ¹¹	2017	Ensayo clínico multicéntrico	605 pacientes en shock séptico en urgencias	Los biomarcadores basales y a las 24 h mostraron ser predictores de mortalidad

sFLT-1 forma parte del equilibrio entre factores angiogénicos presentando bajos valores en personas sin patología endotelial asociada.

Tal y como se describe de forma amplia previamente, sFLT-1 se identifica como significativo en pacientes en shock séptico frente a otros tipos de shock o en pacientes con sepsis leve (criterios Sepsis-2). Dichos resultados se describen ampliamente destacando en el diagnóstico diferencial de shock en urgencias entre sepsis vs. no sepsis⁸, otras causas de shock⁹ y diferencias entre sepsis, sepsis severa y shock séptico. En este último artículo vale la pena reseñar la correlación con la IL-6, así como la escala APACHE-II, escala ya

validada para la sepsis para predecir la gravedad y el pronóstico de los pacientes en unidades de cuidados intensivos¹⁰. Estos 3 artículos se engloban ya que presentan gran coherencia, ya que hacen referencia a la significación estadística y clínica del aumento de sFLT-1 en estudios comparativos sepsis-shock séptico vs. shock no séptico.

Una de las fortalezas de esta revisión es la descripción detallada de cada estudio de análisis multivariante de las patologías ajustadas por comorbilidades, ya que resulta evidente el papel del estado previo de los pacientes como condicionante de elevación de marcadores de disfunción endotelial⁸⁻¹⁰. En esa línea otro de los

Hou et al.¹¹ analizaron la resucitación hemodinámica en urgencias guiada por objetivos vs. tratamiento habitual. No hubo diferencias en el resultado clínico entre las estrategias de reanimación, ni en los perfiles de biomarcadores de permeabilidad vascular (sFLT-1, VEGF, Ang-2) ni hemostasis (vWF, tPA, TM) en las 6 h ni a las 24 h de los biomarcadores analizados. Todos los biomarcadores previamente mencionados fueron indicadores significativos de mortalidad, tanto basalmente como a las 6 h como a las 24 h. Resulta de especial interés la toma basal de biomarcadores como predictores de mortalidad que demostraron tener AUC significativas todas ellas: sFLT-1 0,70 (0,61-0,78), VEGF 0,56 (0,47-0,66), Ang-2 0,67 (0,58-0,76), vWF 0,60 (0,51-0,69), tPA 0,69 (0,61-0,77) y trombomodulina 0,69 (0,60-0,77).

Con respecto a los pacientes con sistema inmune comprometido (neutropénicos y diabéticos), se obtuvieron las siguientes conclusiones:

Alves et al.¹² llevaron a cabo un estudio retrospectivo en el que se compararon 31 pacientes con sepsis vs. 10 pacientes con shock séptico neutropénicos de causa hematológica. Al inicio de la fiebre no presentaron diferencias en los valores de VEGF-A (20,7 pg/ml, 7,9-129,3 pg/ml) vs. (20,0 pg/ml, 9,3-158,9 pg/ml; $p=0,9$) ni en los valores de sFLT-1 (47,3 pg/ml, 20,8-117,6 pg/ml) vs. (49,2 pg/ml, 29,6-91,1 pg/ml; $p=0,3$) ni en sepsis ni shock séptico.

Sin embargo, después de 48 h, los valores de ambos marcadores fueron mayores en pacientes con shock séptico en comparación con pacientes sépticos (116,0 pg/ml, 42,7-208,4 pg/ml) vs. (42,9 pg/ml, 25,9-472,9 pg/ml; $p=0,002$). En cuanto a la correlación respecto a la escala SOFA se demostró VEGF-A al inicio ($Rs=-0,21$; $p=0,23$) vs. 48 h ($Rs=-0,17$; $p=0,33$) y sFLT-1 al inicio ($Rs=0,3$; $p=0,04$) vs. 48 h ($Rs=0,25$; $p=0,16$). Dichos valores son refrendados en las áreas bajo la curva (AUC) a las 48 h VEGF (0,76, 0,55-0,97; $p=0,02$) y sFLT-1 (0,87, 0,73-1,00; $p<0,01$).

Por el contrario, Fiusa et al.¹³ al analizar a pacientes con fiebre neutropénicas encontraron no significativos VEGF-A ni sFLT-1 en cuanto al riesgo de desarrollar shock séptico. Posteriormente comparan pacientes no complicados vs. complicados en cuanto a la angiopoyetina: Ang-1 (898,8 pg/ml; 77,9-5420 pg/ml) vs. (1220 pg/ml; 32,5-47924 pg/ml) $p=0,07$. Ang-2 (4467 pg/ml; 1289-37.318 pg/ml) vs. (6494 pg/ml, 173-49.611 pg/ml), $p=0,02$. Dado el papel antagonista de Ang-1 vs. Ang-2, se analiza el cociente Ang-1/Ang-2 mostrando un ratio (5,3; 0,6-57,1) vs. (1,9; 0,1-64,6) $p=0,01$. Se estimó una AUC 0,68 (IC95%, 0,55-0,81; $p=0,01$). Ratio de 5 presentó sensibilidad 60% (IC95%, 36,1-80,9%) y especificidad 77,2% (IC95%, 66,4-85,9%). Valor predictivo positivo y negativo 47% y 85%, respectivamente. El cociente Ang-2/Ang-1 por encima de 5 aumentó el riesgo relativo de fallecer a los 28 días por 5,8 (IC95%, 1,96-17,59; $p=0,001$) y 2,74 (IC95%, 1,054-7,160; $p=0,03$) ante valores mayores de la mediana.

En cuanto a la diabetes, Schuetz et al.¹⁴ seleccionaron pacientes en sepsis, en sepsis severa y en shock séptico y los dividieron según su patología de base (diabetes vs. no diabetes). En primer lugar, compararon el papel de la diabetes y la sepsis demostrando el aumento de E-selectina (71,4, 45,8-116) vs. (45,1, 30,1-68,6; $p<0,0001$) y sFLT-1 (192, 103-378) vs. (112, 70-187; $p<0,0001$), mientras ICAM-1 y PAI-1 no fueron estadísticamente significativos en diabéticos vs. no diabéticos. Una vez establecida la relación positiva en cuanto a la diabetes, se analizó la sepsis vs. shock séptico, demostrando E-selectina (119, 71-168) vs. (61, 37-83; $p<0,001$) y sFLT-1 (370, 243-712) vs. (190, 113-351; $p=0,001$), siendo no significativo ICAM-1, VCAM ni PAI-1. Tras realizar el estudio multivariante se concluyó la mayor asociación en la escala SOFA en pacientes diabéticos al ajustar por sepsis, entre otras variables ($\beta 0,09$; $p=0,006$).

Skibsted et al.¹⁵ plantearon el seguimiento de StO₂ llevándolo a cabo en tres fases: inicial, fase oclusión y fase de recuperación post liberación del torniquete. Se realizó el estudio multivariante

en las tres fases comparándolo con los biomarcadores sE-selectina, sVCAM-1, ICAM-1, IL-6, sFLT-1 y PAI-1. Siendo únicamente estadísticamente significativos estos dos últimos: sFLT-1 ($r=-0,08$, $p<0,001$) y PAI-1 ($r=-0,06$, $p<0,001$). Sin embargo, al realizar el estudio por subgrupos, en el grupo de la sepsis ninguno de los biomarcadores resultó estadísticamente significativo (tablas 1 y 2).

A continuación, se describen los 3 artículos que se obtienen al aplicar los criterios de inclusión previamente mencionados que presentan relación con la infección por SARS-CoV-2. Se decide la inclusión de estos al presentar una patología de neumonía intersticial bilateral viral que acaba condicionando un síndrome de distrés respiratorio del adulto y que lleva consigo gran cantidad de complicaciones infecciosas bacterianas. Dicha disfunción endotelial surge de la disfunción microcirculatoria por la infiltración de las células endoteliales que expresan ACE2.

Greco et al.¹⁶ comparan valores de sFLT-1 en sujetos infectados vs. controles sanos, ante cifras de 90,3 pg/ml (AUC 0,902, sensibilidad 83,89%, especificidad 86,67%, $p<0,001$). sFLT-1 apareció asociado con la extensión y la gravedad de la enfermedad. Tercer día (122,4 ± 6,9 vs. 155,6 ± 10,6 pg/ml, $p=0,01$), segunda semana de 199,4 ± 32,4 pg/ml, tercera semana 199,0 ± 12,0 pg/ml. En los pacientes control observamos una concentración de sFLT-1 de 78,9 ± 2,5 pg/ml. Agruparon por cuartiles los valores de sFLT-1 y linfocitos, neutrofilia, PCR, LDH, ferritina y procalcitonina, demostrándose aumentado en fallecidos por COVID-19. Se analizó el uso de CA 15.3 como marcador de progresión de fibrosis, mostrando valores séricos de CA 15.3 de pacientes ingresados en UCI en comparación con los pacientes que fueron hospitalizados en planta de hospitalización y sujetos control (42,6 ± 3,3 vs. 25,7 ± 1,5 U/ml vs. pacientes control 14,5 ± 0,3 U/ml $p<0,0001$).

Espinosa-Sosa et al.¹⁷ compararon mujeres embarazadas positivas para COVID-19 graves vs. no graves. Dicha comparativa evidenció significación estadística en la comparativa de las cifras de sFLT-1 (1424; 1054-2099 vs. 6119; 2099-7900, $p=0,0001$), con un cociente sFLT-1/ANG-II ratio (0,92; 0,25-2,03 vs. 14,27; 4,47-42,46 $p=0,0001$). En esa línea se concluyeron unas OR para sepsis grave de sFLT-1 (1,01; 1,00-1,01 $p<0,0001$) y sFLT-1/ANG-II (1,31; 1,09-1,56 $p=0,003$). Por último, un cociente sFLT-1/ANG-II ≥ 3,06 obtuvo una AUC para neumonía grave 0,96 presentando sensibilidad 0,96 (IC95%, 0,88-1,0), especificidad 0,886 (IC95%, 0,80-0,972), VPP 8,48 (IC95%, 3,97-18) y VPN 0,045 (IC95%, 0,01-0,31). Del mismo modo las AUC para el ratio ≥ 3,06 de sFLT-1/ANG-II para riesgo ingreso UCI, intubación, sepsis viral y muerte materna también fueron significativas.

En la misma línea, Torres-Torres et al.¹⁸ analizaron la relación entre sFLT-1 y gravedad de COVID-19 (no grave vs. grave). Los valores de sFLT-1 fueron mayores en pacientes con COVID grave (1789; 1171-3286 vs. 4050; 2099-11,490 $p=0,002$). Hubo una asociación significativa entre sFLT-1 neumonía OR 1,817 (IC95%, 1,365-2,418; $p<0,0001$), ingreso en la UCI OR 2,195 (IC95%, 1,582-3,047), sepsis viral OR 2,318 (IC95%, 1,407-3,820) y muerte materna OR de 5,504 (IC95%, 1,079-28,076). En cuanto a las AUC fueron todas significativas destacando la de gravedad de neumonía 0,715 (0,582-0,828), VPP 38,7 (9,7-61,3), VPN 45,2 (29-64,5) (tabla 3).

Discusión

Un diagnóstico precoz que permita un rápido tratamiento intensivo inicial son claves para la mejora del pronóstico de la sepsis. Ciertos biomarcadores potencialmente utilizables para dicho fin se encuentran ampliamente descritos y gran parte de ellos ya disponibles en la práctica clínica habitual. Sin embargo, estos reactantes de fase aguda también se elevan en patologías de etiología no infecciosa, por lo que resulta mandatorio la identificación de nuevos biomarcadores con sensibilidad y especificidad suficientes para dicho propósito¹⁹.

18. Torres-Torres J, Espino-Y-Sosa S, Poon LC, Solis-Paredes JM, Estrada-Gutiérrez G, Espejel-Núñez A, et al. Increased levels of soluble fms-like tyrosine kinase-1 are associated with adverse outcome in pregnant women with COVID-19. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2022;59:202–8, <http://dx.doi.org/10.1002/uog.24798>.
19. Bellavia D, Iacovoni A, Scardulla C, Moja L, Pilato M, Kushwaha SS, et al. Prediction of right ventricular failure after ventricular assist device implant: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Heart Fail*. 2017;19:926–46, <http://dx.doi.org/10.1002/ejhf.733>.

Proyectos de investigación

- Concedido

GRS 2782/A2/2023. 30/01/2024. Sol. Principal: UGALDE AZPIAZU, MIGUEL JAVIER. Título: La huella diferencial pronostica de sepsis: biomarcadores endoteliales. Concedido 16900€.



I. COMUNIDAD DE CASTILLA Y LEÓN D. OTRAS DISPOSICIONES

CONSEJERÍA DE SANIDAD GERENCIA REGIONAL DE SALUD (SACYL)

RESOLUCIÓN de 16 de mayo de 2024, del Presidente de la Gerencia Regional de Salud de Castilla y León, por la que se aprueba la relación definitiva de proyectos de investigación biosanitaria, gestión sanitaria y atención sociosanitaria que han sido seleccionados para desarrollar en los centros de la Gerencia Regional de Salud, en 2024.

Mediante Resolución de 26 de junio de 2023, del Presidente de la Gerencia Regional de Salud, se establece, el procedimiento de selección de los proyectos de investigación biosanitaria, gestión sanitaria y atención sociosanitaria a desarrollar en los centros de la Gerencia Regional de Salud en 2024.

Se presentaron 219 proyectos de investigación, de los cuales tres proyectos de investigación fueron excluidos por incumplimiento de las obligaciones impuestas por la convocatoria y a 18 proyectos se les tuvo por desistidos al no presentar subsanación en plazo.

Por tanto se remitieron 198 proyectos para que fuesen examinados y evaluados por la Comisión de Valoración, con el asesoramiento técnico de la Agencia para la Evaluación de la Calidad del Sistema Universitario de Castilla y León (ACSYL), según los criterios objetivos que figuran en el resuelvo séptimo de la convocatoria.

Los 198 proyectos presentados se distribuyeron de la siguiente forma:

- La selección de 54 proyectos de investigación modalidad «A-I» correspondientes a Atención Hospitalaria, que mayor puntuación han obtenido, Anexo I, estableciendo la nota de corte de la convocatoria en este grupo en 7,75 puntos.
- La selección de 13 proyectos de investigación modalidad «A-II» correspondientes a Atención Hospitalaria, que mayor puntuación han obtenido, Anexo I, estableciendo la nota de corte de la convocatoria en este grupo en 5 puntos.
- La selección de 1 proyecto de investigación modalidad «B» correspondientes a Emergencias Sanitarias, Anexo II, estableciendo la nota de corte de la convocatoria en esta modalidad en 5 puntos.
- La selección de 22 proyectos de investigación modalidad «C» correspondientes a Atención Primaria, que mayor puntuación han obtenido, Anexo III, estableciendo la nota de corte de la convocatoria en esta modalidad en 5 puntos.

En virtud de la competencia otorgada en el apartado Sexto.5 de la Resolución de 26 de junio de 2023, y vista la Propuesta de Resolución dictada por el Director General de Calidad e Infraestructuras Sanitarias



ANEXO I

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN SELECCIONADOS
MODALIDAD A - ATENCIÓN HOSPITALARIA

GRUPO - II

Código GRS	INVESTIGADOR PRINCIPAL	CENTRO	TÍTULO PROYECTO	DNI IP	Importe concedido
GRS 2713/A2/2023	CRISTINA NIETO GOMEZ	COMPLEJO ASISTENCIAL DE ÁVILA	UN MODELO MULTIVARIANTE: FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULARES Y MORFOLOGÍA ENDOTELIAL CORNEAL	***1526**	2.129 €
GRS 2782/A2/2023	MIGUEL JAVIER UGALDE AZPIAZU	COMPLEJO ASISTENCIAL DE SORIA	LA HUELLA DIFERENCIAL PRONOSTICA DE SEPSIS: BIOMARCADORES ENDOTELIALES	***0038**	16.461 €
GRS 2826/A2/2023	DAVID ANDALUZ OJEDA	COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE PALENCIA	CAMBIOS CRONOBIOLOGICOS DE LA HOSPITALIZACION POR PATOLOGIA INFECTIOSA Y SU RELACION CON LA PANDEMIA COVID-19: ANALISIS BIG DATA EN CASTILLA Y LEON	***8656**	6.044 €
GRS 2868/A2/2023	GABRIEL JESUS RODRIGUEZ RODRIGUEZ	COMPLEJO ASISTENCIAL UNIVERSITARIO DE PALENCIA	AUTOPSIA PSICOLOGICA EN FAMILIARES Y/O ALLEGADOS DE PERSONAS CON SUICIDIO CONSUMADO EN LA PROVINCIA DE PALENCIA	***5058**	1.810 €
GRS 2868/A2/2023	JORGE LUIS TORRES TRIANA	COMPLEJO ASISTENCIAL DE ZAMORA	PREVALENCIA DE ESTEATOSIS HEPATICA NO ALCOHOLICA EN POBLACION NO OBESA Y VALORACION DE LA GRASA PREPERITONEAL COMO MARCADOR DE ESTEATOSIS HEPATICA MEDIANTE ECOGRAFIA CLINICA.	***7219**	14.313 €
GRS 2897/A2/2023	FAHD BEDDAR CHAIB	COMPLEJO ASISTENCIAL DE SORIA	VARIABLES CLINICAS Y FARMACOGENETICAS DE LA EFICACIA Y SEGURIDAD DE LOS ANTICOAGULANTES ORALES DE ACCION DIRECTA EN PACIENTES DE EDAD AVANZADA CON DISTINTO GRADO DE FRAGILIDAD EN LA PROVINCIA DE SORIA	***1970**	16.600 €
GRS 2903/A2/2023	JOSÉ MARÍA PELAYO TERÁN	HOSPITAL EL BIERZO.	VALIDACION DE BIOMARCADORES DIAGNOSTICOS DIFERENCIALES ENTRE ESQUIZOFRENIA Y TRASTORNO BIPOLAR. APROXIMACION AL PRIMER EPISODIO PSICOTICO.	***8299**	7.323 €
GRS 2923/A2/2023	SORAYA ABAD ESTEBANEZ	HOSPITAL DEL BIERZO	PREVALENCIA DE ARRITMIAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA AVANZADA EN PROGRAMA DE HEMODIALISIS CRONICA	***0165**	14.101 €
GRS 2924/A2/2023	IRENE RUIZ-AYÚCAR DE LA VEGA	COMPLEJO ASISTENCIAL DE ÁVILA	MEJORA DEL PROGRAMA DE CRIBADO DE AUTISMO CON M-CHAT-R/F A LOS 18 Y 24 MESES EN PEDIATRIA DE ATENCION PRIMARIA. PILOTAJE DE UN SISTEMA DE APOYO Y FACILITACION ELECTRONICA DE LA DETECCION Y VERIFICACION DE LA SOSPECHA EN EL ÁREA DE SALUD DE ÁVILA.	***1278**	14.489 €
GRS 2926/A2/2023	YOLANDA ZAPICO MERAYO	HOSPITAL EL BIERZO.	SALUD FISICA EN PACIENTES CON TRASTORNO MENTAL GRAVE: UN ESTUDIO DE COHORTE DE 12 AÑOS DE SEGUIMIENTO	***6868**	9.871 €

- Solicitado pendiente de resolución

Abril 2024. Sol. Principal: UGALDE AZPIAZU, MIGUEL JAVIER. Título: Estudio de validación de biomarcadores de disfunción endotelial como factores pronóstico en sepsis. Solicitado 19.900€.

 SOLICITUD DE FINANCIACIÓN. CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.

SOLICITUD DE FINANCIACIÓN. CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

DATOS DE IDENTIFICACIÓN

1.- DATOS DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL

DNI / NIE	Nombre	Primer apellido	Segundo apellido
72800380K	MIGUEL JAVIER	UGALDE	AZPIAZU

DATOS A EFECTOS DE NOTIFICACIONES

Por medios electrónicos
Correo electrónico del investigador principal*
[Redacted] Confirmation Correo electrónico del investigador principal
[Redacted]

(1) La inclusión de la dirección del correo electrónico permitirá a la Administración enviar un aviso informando de la puesta a disposición de una notificación en la sede electrónica de la Administración.

Como sujetos obligados a relacionarse por medios electrónicos con la Administración la notificación se efectuará por el sistema de notificación por comparecencia en la sede electrónica (<https://www.ae.jcyl.es/notifica>). Si transcurridos diez días naturales desde la puesta a disposición de la notificación, no se accede a su contenido, se entenderá rechazada y cumplida la obligación de notificar (artículos 14.2 y 43 de la Ley 39/2015, de 1 de octubre).

DATOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO DEL PROYECTO:
Estudio de validación de biomarcadores de disfunción endotelial como factores pronóstico en sepsis.

SOLICITUD DE FINANCIACIÓN. CONVOCATORIA PROYECTOS DE

1 / 8

COPIA AUTÉNTICA DEL DOCUMENTO Identificador: 0NMMWQATZE4ZM
Nº Registro: 20240001042511 Fecha Registro: 11/05/2024 19:42:34 Fecha Firma: 11/05/2024 19:40:32 Fecha copia: 11/05/2024 19:43:34
Firmado: MIGUEL JAVIER UGALDE AZPIAZU
Acceda a la página web: <https://www.ae.jcyl.es/verDocumentos/ver?idDOE=0NMMWQATZE4ZM> para visualizar el documento





SOLICITUD DE FINANCIACIÓN. CONVOCATORIA PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.

RESUMEN DEL PROYECTO:

La sepsis representa una de las patologías más prevalentes a nivel mundial con una mortalidad del 60% en los casos de shock séptico. Aunque cada vez son más los avances fisiopatológicos de la enfermedad aún no existen biomarcadores claros con capacidad pronóstica que puedan ayudar a frenar la mortalidad asociada. Entre los factores claves para comprender dicha afección, la disfunción endotelial cada vez toma mayor peso. Dicho fenómeno ha sido descrito ampliamente y puede ser la fuente de biomarcadores para el diagnóstico precoz, seguimiento e incluso para definir dianas terapéuticas. Sin embargo, sus biomarcadores más representativos no han sido analizados en su conjunto.

En relación, el objetivo de este estudio prospectivo, observacional, analítico que incluye 250 pacientes, divididos en 5 grupos: 1) sépticos, 2) shock séptico de origen quirúrgico, 3) shock séptico de origen no quirúrgico, 4) shock no séptico y 5) sin complicaciones. En el anterior proyecto QRS se comprobó el papel de (IL-1b, IL-6, VEGF, KLF3, NO, cadherina 11, integrina hCD51 y sFLT1) mediante kits comerciales basados en técnica ELISA. El objetivo será validar los resultados en otra muestra de pacientes los biomarcadores mediante Técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Dichos resultados serán analizados por técnicas bioinformáticas con el fin de poder obtener una huella molecular pronóstica.

Los resultados esperados tienen un interesante recorrido en la descripción de nuevas estrategias pronósticas tan necesarias en otro sentido, que sirvan por fin a disminuir la elevada mortalidad de pacientes con shock séptico.

PRESUPUESTO

INVENTARIAL	DIETAS / VIAJES
0,00 €	500,00 €
FUNGIBLE (consumibles informática, reprografía, material de oficina)	FUNGIBLE (kits laboratorio, reactivos, otro fungible)
0,00 €	12.900,00 €
PUBLICACIONES-DIFUSIÓN	PRESTACIONES DE SERVICIOS
2.500,00 €	4.000,00 €
OTROS	
0,00 €	

TOTAL SOLICITADO:

19.900,00 €

Código IAPaC: n.º 3290 Modelo: n.º 8013

DATOS INVESTIGADOR PRINCIPAL

DNI / NIE	Nombre	Primer apellido	Segundo apellido
72800380K	MIGUEL JAVIER	UGALDE	AZPIAZU
<input checked="" type="checkbox"/> Hombre	Fecha de nacimiento	Teléfono	Fecha de Tesis Doctoral
<input type="checkbox"/> Mujer	08/01/1996	619352615	
ORCID ID	Correo electrónico		
0000-0001-7417-4538			
Vinculación laboral			
Residente			
Titulación Académica			
MEDICINA			
Especialidad			
Medicina Intensiva			

SOLICITUD DE FINANCIACIÓN. CONVOCATORIA PROYECTOS DE

2 / 8

COPIA AUTÉNTICA DEL DOCUMENTO Identificador: 0NMMWQATZE4ZM

Nº Registro: 20240001042511 Fecha Registro: 11/05/2024 19:42:34 Fecha Firma: 11/05/2024 19:40:32 Fecha copia: 11/05/2024 19:43:34
Firmado: MIGUEL JAVIER UGALDE AZPIAZU

Acceda a la página web: <https://www.ee.joy.es/verDocumentos/ver?dDOE=0NMMWQATZE4ZM> para visualizar el documento



Premios

Premio 1. Premio trabajo de Investigación en Formación Especializada 2023





Gerencia de Asistencia Sanitaria de Soria
Unidad de Investigación del Área de Salud de Soria.
Certificado



Otorgado a favor de D. Miguel Javier Ugalde Azpiazu, por su participación en los Premios a la Investigación 2024, convocados por la Gerencia de Asistencia Sanitaria de Soria y la Unidad de Investigación del Área de Salud de Soria, habiendo obtenido el **PREMIO AL MEJOR TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN FORMACIÓN ESPECIALIZADA** por el proyecto de investigación: "Estudio de validación de biomarcadores de disfunción endotelial como factores pronóstico en sepsis"

En Soria a 18 de diciembre de 2024



EL DIRECTOR GERENTE

Fdo. D. José Luis Vicente Cano



GERENCIA DE ASISTENCIA SANITARIA
CONSEJERÍA DE SALUD

Técnicas laboratorio

Anexo 1: IS135, 96 Tests Multiplex Assay Kit for SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2, etc. by FLIA (Flow Luminescence Immunoassay) Organism Species: Homo sapiens (Human) Instruction manual.



Cloud-Clone Corp.

to the expiration date. And please store the kits exactly according to the instruction.

3. Kits from different batches may be a little different in detection range, sensitivity. Please perform the experiment exactly according to the instruction attached in kit while electronic ones from our website is only for reference.
4. Do not mix or substitute reagents from one kit lot to another. Use only the reagents supplied by manufacturer.
5. Protect all reagents from strong light during storage and incubation. All the bottle caps of reagents should be covered tightly to prevent the evaporation and contamination of microorganism.
6. Variation in sample preparation and each step of experimental operation may cause different results. In order to get better reproducible results, the operation of each step in the assay should be controlled.
7. Each kit has been strictly passed QC test. However, results from end users might be inconsistent with our in-house data due to some unexpected transportation conditions or different lab equipments. Intra-assay variance among kits from different batches might arise from above factors, too.
8. Kits from different manufacturers with the same item might produce different results, since we haven't compared our products with other manufacturers.
9. The standard of the kit and immunogen used for antibody preparation are commonly recombinant proteins, as different fragments, expression systems, purification methods might be used in recombinant protein preparation, we cannot guarantee the kit could detect recombinant protein from other companies. So, it is not recommended to use the kit for the detection of recombinant protein.
10. Please predict the concentration of target molecules in samples, or arrange a preliminary experiment, it is a good way to solve specific problem, e.g. the concentration of samples are beyond the detection range of the kit.
11. The kit might not be suitable for detection of samples from some special experiment, for instance, knock-out experiments, due to their uncertainty of effectiveness.
12. The instruction manual is also for the kit of 48T, but all reagents of 48T kit are reduced by half.
13. The kit is designed for research use only, we will not be responsible for any issue if the kit was used in clinical diagnostic or any other procedures.



[SENSITIVITY]

The minimum detectable dose of SDC1 is typically less than 0.033ng/mL.

The minimum detectable dose of ANGPT1 is typically less than 0.003ng/mL.

The minimum detectable dose of ANGPT2 is typically less than 0.26pg/mL.

The minimum detectable dose of ESM1 is typically less than 0.003ng/mL.

The minimum detectable dose of VCAM1 is typically less than 0.017ng/mL.

The minimum detectable dose of ICAM2 is typically less than 0.003ng/mL.

The sensitivity of this assay, or Lower Limit of Detection (LLD) was defined as the lowest protein concentration that could be differentiated from zero. It was determined by adding two standard deviations to the mean MFI value of twenty zero standard replicates and calculating the corresponding concentration.

[SPECIFICITY]

This assay has high sensitivity and excellent specificity for detection of SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2. No significant cross-reactivity or interference between the targets and analogues was observed.

Note:

Limited by current skills and knowledge, it is impossible for us to complete the cross-reactivity detection between the targets and all the analogues, therefore, cross reaction may still exist.

[STABILITY]

The stability of Multiplex Assay Kit is determined by the loss rate of activity. The loss rate of this kit is less than 5% prior to the expiration date under appropriate storage condition.

To minimize extra influence on the performance, operation procedures and lab conditions, especially room temperature, air humidity, incubator temperature should be strictly monitored. It is also strongly suggested that the assay is performed by the same operator from the beginning to the end.

[ASSAY PROCEDURE SUMMARY]

1. Preparation of standards, reagents and samples before the experiment;
2. Pre-wet the wells with 200 μ L analysis buffer, shake for 10mins, and remove the liquid from the well;
3. Add 100 μ L standard or sample to each well, add 10 μ L evenly suspended magnetic beads, incubate 90mins protect from light at 37°C on shaker;
4. Remove liquid on magnetic frame, add 100 μ L prepared Detection Reagent A. Incubate 60mins protect from light at 37°C on shaker;
5. Aspirate and wash plate on magnetic frame for three times;
6. Add 100 μ L prepared Detection Reagent B, incubate 30mins protect from light at 37°C on shaker;
7. Aspirate and wash plate on magnetic frame for three times;
8. Add 100 μ L sheath fluid, cover the wells with the plate sealer and protect from light, shake the plate at 37°C for 10mins on shaker, read on the machine.

[IMPORTANT NOTE]

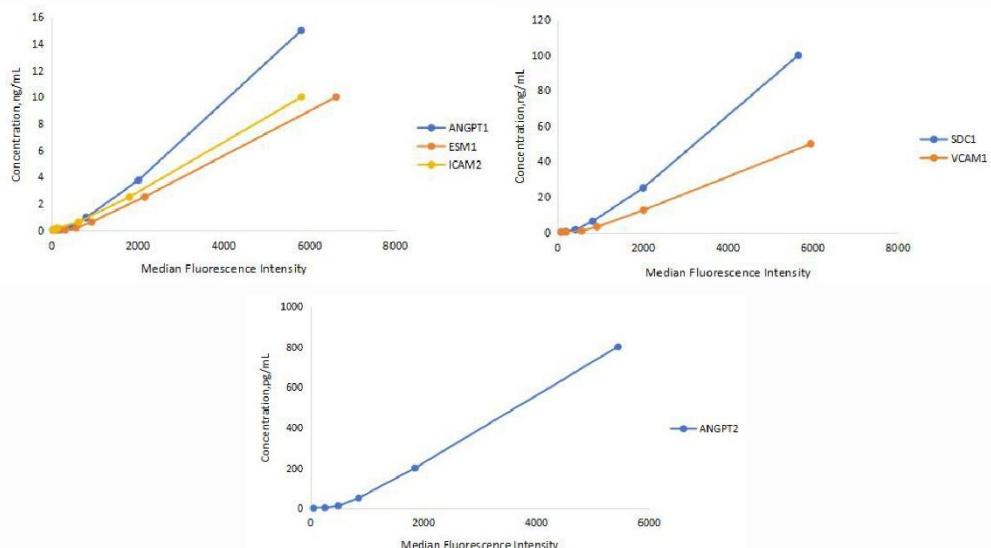
1. Limited by the current conditions and scientific technology, we can't completely conduct the comprehensive identification and analysis on the raw material provided by suppliers. So there might be some qualitative and technical risks to use the kit.
2. The final experimental results will be closely related to validity of the products, so the kit should be used prior



[TYPICAL DATA]

In order to make the calculation easier, we plot the corrected MFI value of the standard as the horizontal axis (X-axis) against the concentration of the standard as the Y-axis, although the concentration is the independent variable and the MFI value is the dependent variable. In order to make the experimental results intuitive, the original data rather than logarithm values are provided in the figure. Logarithmic values are recommended for standard graphs.

However, the MFI of the standard curve may vary according to the conditions of assay performance (e.g. operator, pipetting technique, washing technique or temperature effects), plotting log of the data to establish standard curve for each test is recommended. Typical standard curve below is provided for reference only.



Typical Standard Curve for Multiplex Assay Kit.

[DETECTION RANGE]

SDC1: 0.1-100ng/mL. The standard curve concentrations used were 100.0ng/mL, 25.0ng/mL, 6.25ng/mL, 1.56ng/mL, 0.39ng/mL, 0.1ng/mL.

ANGPT1: 0.01-15ng/mL. The standard curve concentrations used were 15.0ng/mL, 3.75ng/mL, 0.94ng/mL, 0.23ng/mL, 0.06ng/mL, 0.01ng/mL.

ANGPT2: 0.78-800pg/mL. The standard curve concentrations used were 800.0pg/mL, 200.0pg/mL, 50.0pg/mL, 12.5pg/mL, 3.12pg/mL, 0.78pg/mL.

ESM1: 0.01-10ng/mL. The standard curve concentrations used were 10.0ng/mL, 2.5ng/mL, 0.62ng/mL, 0.16ng/mL, 0.04ng/mL, 0.01ng/mL.

VCAM1: 0.05-50ng/mL. The standard curve concentrations used were 50.0ng/mL, 12.5ng/mL, 3.12ng/mL, 0.78ng/mL, 0.2ng/mL, 0.05ng/mL.

ICAM2: 0.01-10ng/mL. The standard curve concentrations used were 10.0ng/mL, 2.5ng/mL, 0.62ng/mL, 0.16ng/mL, 0.04ng/mL, 0.01ng/mL.



wells with the plate sealer and incubate for 30mins protect from light at 37°C on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm.

7. Put the plate on magnetic frame for 2mins, remove the liquid of each well. Add 200µL of 1× Wash Solution to each well and let it sit for 1~2mins. Totally wash 3 times as conducted in step 5.
8. Remove the magnetic frame, add 100µL of sheath fluid to each well, cover the wells with the plate sealer and protect from light, shake the plate at 37°C for 10mins on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm. Make the Magnetic beads in suspension, then run the machine and conduct the reading.

Note:

1. **Samples or reagents addition:** Please use the freshly prepared Standard. Please carefully add samples to wells and mix gently to avoid foaming. Do not touch the well wall. For each step in the procedure, total dispensing time for addition of reagents or samples to the assay plate should not exceed 10mins. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step, without interruption. Duplication of all standards and samples, although not required, is recommended. To avoid cross-contamination, change pipette tips between additions of standards, samples, and reagents. Also, use separated reservoirs for each reagent.
2. **Incubation:** To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary. Do not allow wells to sit uncovered for extended periods between incubation steps. Once reagents are added to the well strips, DO NOT let the strips DRY at any time during the assay. Incubation time and temperature must be controlled. To avoid fluorescence quenching, the incubation process should be performed protect from light.
3. **Washing:** The wash procedure is critical. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. But in order to avoid the lose of Magnetic Beads, please perform the wash step on the magnetic frame. DO NOT blot the plate on absorbent paper. Insufficient washing will result in poor precision and false elevated reading.
4. If the humidity in the laboratory is below 60%, it is recommended to use a humidifier to increase the humidity.
5. Before reading, adjust the needle of the instrument to the appropriate height (two magnetic gaskets) from the bottom of the plate wells.

[TEST PRINCIPLE]

Anti-SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2 antibodies were coated on the surface of magnetic beads of 15#/19#/21#/26#/28#/35# respectively, to make solid phase carrier. Standard or sample were added to the magnetic beads, respectively, in which SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2 was bound to the antibody connected to the solid phase carrier, and then biotinylated anti-SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2 antibodies were added. After the unbound biotinylated antibody was washed, PE-labeled avidin was added. There is a positive correlation between the concentration of SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2 in the sample and corresponding value of MFI (Median Fluorescence Intensity). Luminex analyzer was used to determine and calculate the sample concentration.

[CALCULATION OF RESULTS]

Median MFI value of each standard, control and samples subtract the zero standard MFI value. Create standard curves with SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2 concentration on the Y-axis and corresponding MFI on the X-axis, respectively. Draw a best fit curve through the points and it can be determined by regression analysis. If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.



caused by pipetting, use small volumes and ensure that pipettors are calibrated. It is recommended to suck more than 10 μ L for one pipetting.

4. The reconstituted Standards, Detection Reagent A and Detection Reagent B can be **used only once**.
5. If crystals have formed in the Wash Solution concentrate (30 \times), warm to room temperature and mix gently until the crystals are completely dissolved.
6. Contaminated water or container for reagent preparation will influence the detection result.

[SAMPLE PREPARATION]

1. We are only responsible for the kit itself, but not for the samples consumed during the assay. The user should calculate the possible amount of the samples used in the whole test. Please reserve sufficient samples in advance.
2. Please predict the concentration before assaying. If values for these are not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments. Sample should be diluted by PBS.
3. If the volume of samples is limited, please dilute the samples with PBS to appropriate volume.
4. If the samples are not indicated in the manual, a preliminary experiment to determine the validity of the kit is necessary.
5. Tissue or cell extraction samples prepared by chemical lysis buffer may cause unexpected results due to the impacts from certain chemicals.
6. Due to the possibility of mismatching between antigen from other origin and antibody used in our kits (e.g. antibody targets conformational epitope rather than linear epitope), some native or recombinant proteins from other manufacturers may not be recognized by our products.
7. Influenced by the factors including cell viability, cell number or sampling time, samples from cell culture supernates may not be detected by the kit.
8. Fresh samples without long time storage is recommended for the test. Otherwise, protein degradation and denaturalization may occur in those samples and finally lead to wrong results.

[ASSAY PROCEDURE]

1. Add 200 μ L analysis buffer solution to each well of the plate for pre-wetting. Shake the plate at room temperature for 10mins on shaker. Then, remove the liquid from the well.
2. Determine wells for diluted standard, blank and sample. Prepare 6 wells for standard, 1 well for blank. Add 100 μ L each of dilutions of Standard (follow Reagent Preparation step 2), blank and samples into the appropriate wells. Use vortex oscillator to suspend the magnetic beads, add 10 μ L evenly suspended magnetic beads in each well. Cover with the Plate sealer. Incubate for 90mins protect from light at 37°C on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm, to avoid settling of magnetic beads.
3. Put the plate on magnetic frame for 2mins, then remove the liquid of each well with plate on the magnetic frame, don't wash.
4. Add 100 μ L of **Detection Reagent A** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 60mins protect from light at 37°C on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm.
5. Put the plate on magnetic frame for 2mins, then remove the liquid of each well. Add 200 μ L of 1 \times Wash Solution to each well and let it sit for 1~2mins. Remove the liquid of each well with plate on the magnetic frame. Totally wash 3 times. This process could be performed by magnetic plate autowasher.
6. Remove the magnetic frame, add 100 μ L of **Detection Reagent B** working solution to each well, cover the



3. The lipids, colloids or precipitates in the sample will cause the aggregation and sedimentation of magnetic beads and influence the final detection result. It is recommended to centrifuge the sample first and test the sample supernatant.
4. Samples should be slowly equalized to room temperature before use, and should not be heated to melt.
5. Cell cultures with animal serum may contain high levels of latent factor in the preparation of cell culture media and will affect the results.

[Luminex 200 analyzer]

1. Analytes volume: 70 μ L.
2. Bead type: MagPlex.
3. Total Count: 50 count/region.
4. Collect Median Fluorescence Intensity (MFI).

[REAGENT PREPARATION]

1. Bring all kit components and samples to room temperature (18~25°C) before use. If the kit will not be used up in one time, please only take out strips and reagents for present experiment, and leave the remaining strips and reagents in required condition.
2. **Standard** - Reconstitute the **Standard** with 0.5mL of **Standard Diluent**, kept for 10mins at room temperature, shake gently (not to foam). The highest concentration of the Standard is shown as tube "1" in the table below. Please prepare 6 tubes labeled 2~7 containing 0.3mL Standard Diluent, produce a 4-fold dilution series according to the table shown below. Mix each tube thoroughly before the next transfer. Take 100 μ L to the next tube and mix, until the "6" tube with the lowest target concentration. The "7" tube only added Standard Diluent is the blank with 0pg/mL.

Item	1	2	3	4	5	6	7	Concentration
SDC1	100	25	6.25	1.56	0.39	0.10	0	ng/mL
ANGPT1	15	3.75	0.94	0.23	0.06	0.01	0	ng/mL
ANGPT2	800	200	50	12.5	3.12	0.78	0	pg/mL
ESM1	10	2.5	0.62	0.16	0.04	0.01	0	ng/mL
VCAM1	50	12.5	3.12	0.78	0.20	0.05	0	ng/mL
ICAM2	10	2.5	0.62	0.16	0.04	0.01	0	ng/mL

3. Before using the **Pre-Mixed Magnetic beads**, please briefly spin or centrifuge it to make the liquid attached to the tube wall or bottle cap deposit to the bottom of the tube. During the assay, use vortex oscillator to keep the suspension of magnetic beads, premixed magnetic beads should be protected from light.
4. **Detection Reagent A and Detection Reagent B** - Briefly spin or centrifuge the stock Detection A and Detection B before use. Dilute them to the working concentration 100-fold with **Assay Diluent A** and **B**, respectively. Detection Reagent B should be protected from light during the experiment.
5. **Wash Solution** - Dilute 20mL of Wash Solution concentrate (30 \times) with 580mL of deionized or distilled water to prepare 600mL of Wash Solution (1 \times).

Note:

1. Making serial dilution in the wells directly is not permitted.
2. Prepare standards within 15mins before assay. Please do not dissolve the reagents at 37°C directly.
3. Please carefully reconstitute Standards or working Detection Reagent A and B according to the instruction, and avoid foaming and mix gently until the crystals are completely dissolved. To minimize imprecision



[STORAGE OF THE KITS]

- 1. For unused kit:** For experiment convenience, reagents should be stored separately, Standard and Detection Reagent A should be stored at -20°C while the others could be at 4°C. Pre-Mixed Magnetic beads and Detection Reagent B should be protected from light.
- 2. For used kit:** When the kit is used, the remaining reagents need to be stored according to the above storage conditions.

Note:

It is highly recommended to use the remaining reagents within 1 month provided this is prior to the expiration date of the kit. For the expiration date of the kit, please refer to the label on the kit box. All components are stable up to the expiration date.

[SAMPLE COLLECTION AND STORAGE]

Serum - Use a serum separator tube and allow samples to clot for two hours at room temperature or overnight at 4°C before centrifugation for 20mins at approximately 1,000×g. Assay freshly prepared serum immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Plasma - Collect plasma using EDTA or heparin as an anticoagulant. Centrifuge samples for 15mins at 1,000×g at 2~8°C within 30mins of collection. Remove plasma and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Tissue homogenates - The preparation of tissue homogenates will vary depending upon tissue type.

1. Tissues were rinsed in ice-cold PBS to remove excess blood thoroughly and weighed before homogenization.
2. Mince the tissues to small pieces and homogenized them in fresh lysis buffer (catalog: IS007, different lysis buffer needs to be chosen based on subcellular location of the target protein) (w:v = 1:20~1:50, e.g. 1mL lysis buffer is added in 20~50mg tissue sample) with a glass homogenizer on ice.
3. The resulting suspension was sonicated with an ultrasonic cell disrupter till the solution is clarified.
4. Then, the homogenates were centrifuged for 5mins at 10,000×g. Collect the supernates and assay immediately or aliquot and store at ≤-20°C.

Cell Lysates - Cells need to be lysed before assaying according to the following directions.

1. Adherent cells should be washed by cold PBS gently, and then detached with trypsin, and collected by centrifugation at 1,000×g for 5mins (suspension cells can be collected by centrifugation directly).
2. Wash cells three times in cold PBS.
3. Resuspend cells in fresh lysis buffer with concentration of 10⁷ cells/mL. If it is necessary, the cells could be subjected to ultrasonication till the solution is clarified.
4. Centrifuge at 1,500×g for 10mins at 2~8°C to remove cellular debris. Assay immediately or aliquot and store at ≤-20°C.

Cell culture supernates and other biological fluids - Centrifuge samples for 20mins at 1,000×g. Collect the supernates and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Note:

1. Samples to be used within one week may be stored at 4°C, otherwise samples must be stored at -20°C (≤1 month) or -80°C (≤2 months) to avoid loss of bioactivity and contamination.
2. Sample hemolysis will influence the result, so hemolytic specimen should not be used.



IS135, 96 Tests

Multiplex Assay Kit for SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2, etc.

by FLIA (Flow Luminescence Immunoassay)

Organism Species: *Homo sapiens* (Human)

Instruction manual

FOR RESEARCH USE ONLY

NOT FOR USE IN CLINICAL DIAGNOSTIC PROCEDURES

Version 3.0

[INTENDED USE]

The kit is a magnetic bead-based multiplex assay kit applies sandwich immunoassay for in vitro quantitative measurement of SDC1, ANGPT1, ANGPT2, ESM1, VCAM1, ICAM2 in human serum, plasma, tissue homogenates, cell lysates, cell culture supernates and other biological fluids.

[REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED]

Reagents	Quantity	Reagents	Quantity
96-well plate	1	Plate sealer for 96 wells	4
Pre-Mixed Standard	2	Standard Diluent	1×20mL
Pre-Mixed Magnetic beads: SDC1 (15#); ANGPT1 (19#); ANGPT2 (21#); ESM1 (26#); VCAM1 (28#); ICAM2 (35#);	1×1mL	Analysis buffer	1×20mL
Pre-Mixed Detection Reagent A	1×120µL	Assay Diluent A	1×12mL
Detection Reagent B	1×120µL	Assay Diluent B	1×12mL
Sheath Fluid	1×10mL	Wash Buffer (30 × concentrate)	1×20mL
Instruction manual	1		

[MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED]

1. Luminex MAGPIX®, Luminex 100™, Luminex 200™ or Bio-Rad®, Bio-Plex® analyzer (It is recommended that the instrument be preheated, self-checked and calibrated before use).
2. Single or multi-channel pipettes with high precision and disposable tips.
3. Microcentrifuge Tubes.
4. Deionized or distilled water.
5. Magnetic frame.
6. Container for Wash Solution.
7. 0.01mol/L (or 1×) Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7.0~7.2.
8. Vortex oscillator.
9. Incubated Shaker.



[TROUBLE SHOOTING]

Problem	Possible Source	Correction Action
Poor Standard Curve	Improper standard curve preparation	Ensure accurate operation of the dilution
	Incomplete washing and aspiration	Adequate washing and adequate aspiration
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Poor Precision	Incomplete washing of wells	Ensure sufficient washing
	Inadequate mixing and aspiration reagents	Adequate aspiration and mixing reagents
	Reused pipette tips, containers and sealers	Change and use new pipette tips, containers and sealers
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Low MFI	Inadequate reagent volumes added to wells	Calibrate pipettes and Add adequate reagents
	Incorrect incubation times	Ensure sufficient incubation times
	Incorrect incubation temperature	Reagents balanced to room temperature
	Lose of Magnetic Beads during the assay	Ensure the washing process performed on the magnetic frame, do not blot the plate on absorbent paper
	Conjugate reagent failure	Replace the conjugate reagent
	Incorrect Conjugate reagent dilution	Follow the assay protocol in the kit manual
	Read beyond suggested reading time	Read within the time recommended in the manual
Sample Values	Improper Sample Storage	Store the sample properly and use the fresh sample
	Improper sample collection and preparation	Take proper sample collection and preparation method
	Low quantity of analyte in samples	Use new sample and repeat assay

Anexo 2: LMB818Hu, 96 Tests Multiplex Assay Kit for Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (VEGFR1), etc. by FLIA (Flow Luminescence Immunoassay) Organism Species: Homo sapiens (Human) Instruction manual.



protect from light at 37°C on shaker;

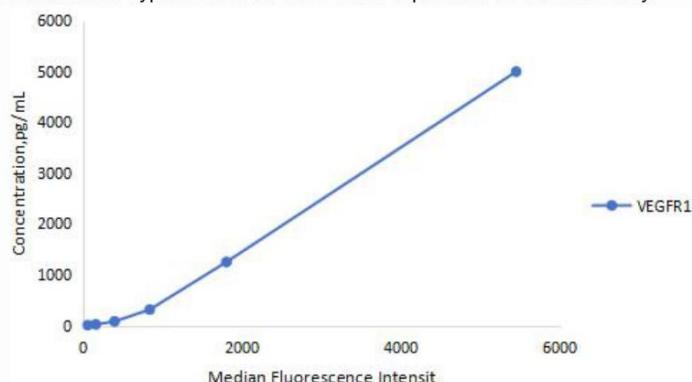
4. Remove liquid on magnetic frame, add 100µL prepared Detection Reagent A. Incubate 60mins protect from light at 37°C on shaker;
5. Aspirate and wash plate on magnetic frame for three times;
6. Add 100µL prepared Detection Reagent B, incubate 30mins protect from light at 37°C on shaker;
7. Aspirate and wash plate on magnetic frame for three times;
8. Add 100µL sheath fluid, cover the wells with the plate sealer and protect from light, shake the plate at 37°C for 10mins on shaker, read on the machine.

[IMPORTANT NOTE]

1. Limited by the current conditions and scientific technology, we can't completely conduct the comprehensive identification and analysis on the raw material provided by suppliers. So there might be some qualitative and technical risks to use the kit.
2. The final experimental results will be closely related to validity of the products, so the kit should be used prior to the expiration date. And please store the kits exactly according to the instruction.
3. Kits from different batches may be a little different in detection range, sensitivity. Please perform the experiment exactly according to the instruction attached in kit while electronic ones from our website is only for reference.
4. Do not mix or substitute reagents from one kit lot to another. Use only the reagents supplied by manufacturer.
5. Protect all reagents from strong light during storage and incubation. All the bottle caps of reagents should be covered tightly to prevent the evaporation and contamination of microorganism.
6. Variation in sample preparation and each step of experimental operation may cause different results. In order to get better reproducible results, the operation of each step in the assay should be controlled.
7. Each kit has been strictly passed QC test. However, results from end users might be inconsistent with our in-house data due to some unexpected transportation conditions or different lab equipments. Intra-assay variance among kits from different batches might arise from above factors, too.
8. Kits from different manufacturers with the same item might produce different results, since we haven't compared our products with other manufacturers.
9. The standard of the kit and immunogen used for antibody preparation are commonly recombinant proteins, as different fragments, expression systems, purification methods might be used in recombinant protein preparation, we cannot guarantee the kit could detect recombinant protein from other companies. So, it is not recommended to use the kit for the detection of recombinant protein.
10. Please predict the concentration of target molecules in samples, or arrange a preliminary experiment, it is a good way to solve specific problem, e.g. the concentration of samples are beyond the detection range of the kit.
11. The kit might not be suitable for detection of samples from some special experiment, for instance, knock-out experiments, due to their uncertainty of effectiveness.
12. The instruction manual is also for the kit of 48T, but all reagents of 48T kit are reduced by half.
13. The kit is designed for research use only, we will not be responsible for any issue if the kit was used in clinical diagnostic or any other procedures.



pipetting technique, washing technique or temperature effects), plotting log of the data to establish standard curve for each test is recommended. Typical standard curve below is provided for reference only.



Typical Standard Curve for Multiplex Assay Kit.

[DETECTION RANGE]

VEGFR1: 4.88-5000pg/mL. The standard curve concentrations used were 5000pg/mL, 1250pg/mL, 312.5pg/mL, 78.12pg/mL, 19.53pg/mL, 4.88pg/mL.

[SENSITIVITY]

The minimum detectable dose of VEGFR1 is typically less than 1.627pg/mL.

The sensitivity of this assay, or Lower Limit of Detection (LLD) was defined as the lowest protein concentration that could be differentiated from zero. It was determined by adding two standard deviations to the mean MFI value of twenty zero standard replicates and calculating the corresponding concentration.

[SPECIFICITY]

This assay has high sensitivity and excellent specificity for detection of VEGFR1. No significant cross-reactivity or interference between the targets and analogues was observed.

Note:

Limited by current skills and knowledge, it is impossible for us to complete the cross-reactivity detection between the targets and all the analogues, therefore, cross reaction may still exist.

[STABILITY]

The stability of Multiplex Assay Kit is determined by the loss rate of activity. The loss rate of this kit is less than 5% prior to the expiration date under appropriate storage condition.

To minimize extra influence on the performance, operation procedures and lab conditions, especially room temperature, air humidity, incubator temperature should be strictly monitored. It is also strongly suggested that the assay is performed by the same operator from the beginning to the end.

[ASSAY PROCEDURE SUMMARY]

1. Preparation of standards, reagents and samples before the experiment;
2. Pre-wet the wells with 200 μ L analysis buffer, shake for 10mins, and remove the liquid from the well;
3. Add 100 μ L standard or sample to each well, add 10 μ L evenly suspended magnetic beads, incubate 90mins



protect from light, shake the plate at 37°C for 10mins on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm.

Make the Magnetic beads in suspension, then run the machine and conduct the reading.

Note:

1. **Samples or reagents addition:** Please use the freshly prepared Standard. Please carefully add samples to wells and mix gently to avoid foaming. Do not touch the well wall. For each step in the procedure, total dispensing time for addition of reagents or samples to the assay plate should not exceed 10mins. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step, without interruption. Duplication of all standards and samples, although not required, is recommended. To avoid cross-contamination, change pipette tips between additions of standards, samples, and reagents. Also, use separated reservoirs for each reagent.
2. **Incubation:** To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary. Do not allow wells to sit uncovered for extended periods between incubation steps. Once reagents are added to the well strips, DO NOT let the strips DRY at any time during the assay. Incubation time and temperature must be controlled. To avoid fluorescence quenching, the incubation process should be performed protect from light.
3. **Washing:** The wash procedure is critical. Complete removal of liquid at each step is essential for good performance. But in order to avoid the lose of Magnetic Beads, please perform the wash step on the magnetic frame. DO NOT blot the plate on absorbent paper. Insufficient washing will result in poor precision and false elevated reading.
4. If the humidity in the laboratory is below 60%, it is recommended to use a humidifier to increase the humidity.
5. Before reading, adjust the needle of the instrument to the appropriate height (two magnetic gaskets) from the bottom of the plate wells.

[TEST PRINCIPLE]

Anti-VEGFR1 antibodies were coated on the surface of magnetic beads of 13# respectively, to make solid phase carrier. Standard or sample were added to the magnetic beads, respectively, in which VEGFR1was bound to the antibody connected to the solid phase carrier, and then biotinylated anti-VEGFR1 antibodies were added. After the unbound biotinylated antibody was washed, PE-labeled avidin was added. There is a positive correlation between the concentration of VEGFR1 in the sample and corresponding value of MFI (Median Fluorescence Intensity). Luminex analyzer was used to determine and calculate the sample concentration.

[CALCULATION OF RESULTS]

Median MFI value of each standard, control and samples subtract the zero standard MFI value. Create standard curves with VEGFR1 concentration on the Y-axis and corresponding MFI on the X-axis, respectively. Draw a best fit curve through the points and it can be determined by regression analysis. If samples have been diluted, the concentration read from the standard curve must be multiplied by the dilution factor.

[TYPICAL DATA]

In order to make the calculation easier, we plot the corrected MFI value of the standard as the horizontal axis (X-axis) against the concentration of the standard as the Y-axis, although the concentration is the independent variable and the MFI value is the dependent variable. In order to make the experimental results intuitive, the original data rather than logarithm values are provided in the figure. Logarithmic values are recommended for standard graphs.

However, the MFI of the standard curve may vary according to the conditions of assay performance (e.g. operator,



6. Contaminated water or container for reagent preparation will influence the detection result.

[SAMPLE PREPARATION]

1. We are only responsible for the kit itself, but not for the samples consumed during the assay. The user should calculate the possible amount of the samples used in the whole test. Please reserve sufficient samples in advance.
2. Please predict the concentration before assaying. If values for these are not within the range of the standard curve, users must determine the optimal sample dilutions for their particular experiments. Sample should be diluted by PBS.
3. If the volume of samples is limited, please dilute the samples with PBS to appropriate volume.
4. If the samples are not indicated in the manual, a preliminary experiment to determine the validity of the kit is necessary.
5. Tissue or cell extraction samples prepared by chemical lysis buffer may cause unexpected results due to the impacts from certain chemicals.
6. Due to the possibility of mismatching between antigen from other origin and antibody used in our kits (e.g. antibody targets conformational epitope rather than linear epitope), some native or recombinant proteins from other manufacturers may not be recognized by our products.
7. Influenced by the factors including cell viability, cell number or sampling time, samples from cell culture supernates may not be detected by the kit.
8. Fresh samples without long time storage is recommended for the test. Otherwise, protein degradation and denaturalization may occur in those samples and finally lead to wrong results.

[ASSAY PROCEDURE]

1. Add 200 μ L analysis buffer solution to each well of the plate for pre-wetting. Shake the plate at room temperature for 10mins on shaker. Then, remove the liquid from the well.
2. Determine wells for diluted standard, blank and sample. Prepare 6 wells for standard, 1 well for blank. Add 100 μ L each of dilutions of Standard (follow Reagent Preparation step 2), blank and samples into the appropriate wells. Use vortex oscillator to suspend the magnetic beads, add 10 μ L evenly suspended magnetic beads in each well. Cover with the Plate sealer. Incubate for 90mins protect from light at 37°C on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm, to avoid settling of magnetic beads.
3. Put the plate on magnetic frame for 2mins, then remove the liquid of each well with plate on the magnetic frame, don't wash.
4. Add 100 μ L of **Detection Reagent A** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 60mins protect from light at 37°C on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm.
5. Put the plate on magnetic frame for 2mins, then remove the liquid of each well. Add 200 μ L of 1 \times Wash Solution to each well and let it sit for 1~2mins. Remove the liquid of each well with plate on the magnetic frame. Totally wash 3 times. This process could be performed by magnetic plate autowasher.
6. Remove the magnetic frame, add 100 μ L of **Detection Reagent B** working solution to each well, cover the wells with the plate sealer and incubate for 30mins protect from light at 37°C on shaker with speed of 800rpm, amplitude of 2~4mm.
7. Put the plate on magnetic frame for 2mins, remove the liquid of each well. Add 200 μ L of 1 \times Wash Solution to each well and let it sit for 1~2mins. Totally wash 3 times as conducted in step 5.
8. Remove the magnetic frame, add 100 μ L of sheath fluid to each well, cover the wells with the plate sealer and



3. The lipids, colloids or precipitates in the sample will cause the aggregation and sedimentation of magnetic beads and influence the final detection result. It is recommended to centrifuge the sample first and test the sample supernatant.
4. Samples should be slowly equalized to room temperature before use, and should not be heated to melt.
5. Cell cultures with animal serum may contain high levels of latent factor in the preparation of cell culture media and will affect the results.

[Luminex 200 analyzer]

1. Analytes volume: 70 μ L.
2. Bead type: MagPlex.
3. Total Count: 50 count/region.
4. Collect Median Fluorescence Intensity (MFI).

[REAGENT PREPARATION]

1. Bring all kit components and samples to room temperature (18–25°C) before use. If the kit will not be used up in one time, please only take out strips and reagents for present experiment, and leave the remaining strips and reagents in required condition.
2. **Standard** - Reconstitute the **Standard** with 1.0mL of **Standard Diluent**, kept for 10mins at room temperature, shake gently (not to foam). The highest concentration of the Standard is shown as tube “1” in the table below. Please prepare 6 tubes labeled 2–7 containing 0.3mL Standard Diluent, produce a 4-fold dilution series according to the table shown below. Mix each tube thoroughly before the next transfer. Take 100 μ L to the next tube and mix, until the “6” tube with the lowest target concentration. The “7” tube only added Standard Diluent is the blank with 0pg/mL.

Item	1	2	3	4	5	6	7	Concentration
VEGFR1	5000	1250	312.5	78.13	19.53	4.88	0	pg/mL

3. Before using the **Pre-Mixed Magnetic beads**, please briefly spin or centrifuge it to make the liquid attached to the tube wall or bottle cap deposit to the bottom of the tube. During the assay, use vortex oscillator to keep the suspension of magnetic beads, premixed magnetic beads should be protected from light.
4. **Detection Reagent A and Detection Reagent B** - Briefly spin or centrifuge the stock Detection A and Detection B before use. Dilute them to the working concentration 100-fold with **Assay Diluent A** and **B**, respectively. Detection Reagent B should be protected from light during the experiment.
5. **Wash Solution** - Dilute 20mL of Wash Solution concentrate (30 \times) with 580mL of deionized or distilled water to prepare 600mL of Wash Solution (1 \times).

Note:

1. Making serial dilution in the wells directly is not permitted.
2. Prepare standards within 15mins before assay. Please do not dissolve the reagents at 37°C directly.
3. Please carefully reconstitute Standards or working Detection Reagent A and B according to the instruction, and avoid foaming and mix gently until the crystals are completely dissolved. To minimize imprecision caused by pipetting, use small volumes and ensure that pipettors are calibrated. It is recommended to suck more than 10 μ L for one pipetting.
4. The reconstituted Standards, Detection Reagent A and Detection Reagent B can be **used only once**.
5. If crystals have formed in the Wash Solution concentrate (30 \times), warm to room temperature and mix gently until the crystals are completely dissolved.



[STORAGE OF THE KITS]

- 1. For unused kit:** For experiment convenience, reagents should be stored separately, Standard and Detection Reagent A should be stored at -20°C while the others could be at 4°C. Pre-Mixed Magnetic beads and Detection Reagent B should be protected from light.
- 2. For used kit:** When the kit is used, the remaining reagents need to be stored according to the above storage conditions.

Note:

It is highly recommended to use the remaining reagents within 1 month provided this is prior to the expiration date of the kit. For the expiration date of the kit, please refer to the label on the kit box. All components are stable up to the expiration date.

[SAMPLE COLLECTION AND STORAGE]

Serum - Use a serum separator tube and allow samples to clot for two hours at room temperature or overnight at 4°C before centrifugation for 20mins at approximately 1,000×g. Assay freshly prepared serum immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Plasma - Collect plasma using EDTA or heparin as an anticoagulant. Centrifuge samples for 15mins at 1,000×g at 2~8°C within 30mins of collection. Remove plasma and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Tissue homogenates - The preparation of tissue homogenates will vary depending upon tissue type.

1. Tissues were rinsed in ice-cold PBS to remove excess blood thoroughly and weighed before homogenization.
2. Mince the tissues to small pieces and homogenized them in fresh lysis buffer (catalog: IS007, different lysis buffer needs to be chosen based on subcellular location of the target protein) (w:v = 1:20~1:50, e.g. 1mL lysis buffer is added in 20~50mg tissue sample) with a glass homogenizer on ice.
3. The resulting suspension was sonicated with an ultrasonic cell disrupter till the solution is clarified.
4. Then, the homogenates were centrifuged for 5mins at 10,000×g. Collect the supernates and assay immediately or aliquot and store at ≤-20°C.

Cell Lysates - Cells need to be lysed before assaying according to the following directions.

1. Adherent cells should be washed by cold PBS gently, and then detached with trypsin, and collected by centrifugation at 1,000×g for 5mins (suspension cells can be collected by centrifugation directly).
2. Wash cells three times in cold PBS.
3. Resuspend cells in fresh lysis buffer with concentration of 10⁷ cells/mL. If it is necessary, the cells could be subjected to ultrasonication till the solution is clarified.
4. Centrifuge at 1,500×g for 10mins at 2~8°C to remove cellular debris. Assay immediately or aliquot and store at ≤-20°C.

Cell culture supernates and other biological fluids - Centrifuge samples for 20mins at 1,000×g. Collect the supernates and assay immediately or store samples in aliquot at -20°C or -80°C for later use. Avoid repeated freeze/thaw cycles.

Note:

1. Samples to be used within one week may be stored at 4°C, otherwise samples must be stored at -20°C (≤1 month) or -80°C (≤2 months) to avoid loss of bioactivity and contamination.
2. Sample hemolysis will influence the result, so hemolytic specimen should not be used.



LMB818Hu, 96 Tests

Multiplex Assay Kit for Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (VEGFR1), etc.

by FLIA (Flow Luminescence Immunoassay)

Organism Species: *Homo sapiens* (Human)

Instruction manual

FOR RESEARCH USE ONLY

NOT FOR USE IN CLINICAL DIAGNOSTIC PROCEDURES

Version 3.0

[INTENDED USE]

The kit is a magnetic bead-based multiplex assay kit applies sandwich immunoassay for in vitro quantitative measurement of VEGFR1 in human serum, plasma, tissue homogenates, cell lysates, cell culture supernates and other biological fluids.

[REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED]

Reagents	Quantity	Reagents	Quantity
96-well plate	1	Plate sealer for 96 wells	4
Pre-Mixed Standard	2	Standard Diluent	1×20mL
Pre-Mixed Magnetic beads: VEGFR1 (13#)	1×1mL	Analysis buffer	1×20mL
Pre-Mixed Detection Reagent A	1×120μL	Assay Diluent A	1×12mL
Detection Reagent B	1×120μL	Assay Diluent B	1×12mL
Sheath Fluid	1×10mL	Wash Buffer (30 × concentrate)	1×20mL
Instruction manual	1		

[MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED]

1. Luminex MAGPIX®, Luminex 100™, Luminex 200™ or Bio-Rad®, Bio-Plex® analyzer (It is recommended that the instrument be preheated, self-checked and calibrated before use).
2. Single or multi-channel pipettes with high precision and disposable tips.
3. Microcentrifuge Tubes.
4. Deionized or distilled water.
5. Magnetic frame.
6. Container for Wash Solution.
7. 0.01mol/L (or 1×) Phosphate Buffered Saline (PBS), pH 7.0~7.2.
8. Vortex oscillator.
9. Incubated Shaker.



[TROUBLE SHOOTING]

Problem	Possible Source	Correction Action
Poor Standard Curve	Improper standard curve preparation	Ensure accurate operation of the dilution
	Incomplete washing and aspiration	Adequate washing and adequate aspiration
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Poor Precision	Incomplete washing of wells	Ensure sufficient washing
	Inadequate mixing and aspiration reagents	Adequate aspiration and mixing reagents
	Reused pipette tips, containers and sealers	Change and use new pipette tips, containers and sealers
	Inaccurate Pipetting	Check and Calibrate pipettes
Low MFI	Inadequate reagent volumes added to wells	Calibrate pipettes and Add adequate reagents
	Incorrect incubation times	Ensure sufficient incubation times
	Incorrect incubation temperature	Reagents balanced to room temperature
	Lose of Magnetic Beads during the assay	Ensure the washing process performed on the magnetic frame, do not blot the plate on absorbent paper
	Conjugate reagent failure	Replace the conjugate reagent
	Incorrect Conjugate reagent dilution	Follow the assay protocol in the kit manual
	Read beyond suggested reading time	Read within the time recommended in the manual
Sample Values	Improper Sample Storage	Store the sample properly and use the fresh sample
	Improper sample collection and preparation	Take proper sample collection and preparation method
	Low quantity of analyte in samples	Use new sample and repeat assay

Autorizaciones

Anexo 3: Comité de ética de la investigación con medicamentos Área de salud Valladolid. Proyecto Dianas terapéuticas en Sepsis: En búsqueda del arca perdida. Indiana.

 HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSITARIO DE VALLADOLID Avda. Ramón y Cajal, 3 - 47003 Valladolid Tel.: 983 42 00 00 - Fax 983 25 75 11 gerente.hcuv@saludcastillayleon.es	 ESTACIÓN DE SALUD	 Sacyl			
<p>COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS ÁREA DE SALUD VALLADOLID</p> <p>Valladolid a 18 de febrero de 2021</p> <p>En la reunión del CEIm ÁREA DE SALUD VALLADOLID ESTE del 18 de febrero de 2021, se procedió a la evaluación de los aspectos éticos del siguiente proyecto de investigación.</p> <table border="1"><tr><td>PI-FIS-21-2189</td><td>DIANAS TERAPÉUTICAS EN SEPSIS: EN BUSCA DEL ARCA PERDIDA (InDiana)</td><td>I.P.: HUGO GONZALO BENITO, EDUARDO TAMAYO GÓMEZ; EQUIPO: PEDRO MARTÍNEZ DE PAZ, ESTHER GÓMEZ SÁNCHEZ; MARÍA HEREDIA RODRÍGUEZ; ESTEFANÍA GÓMEZ PESQUERA; MARIO LORENZO LÓPEZ; JAVIER ÁLVAREZ GONZÁLEZ; EMILIO GARCÍA MORAN; EMILIO MASEDA GARRIDO, SHEREZADE TOVAR DONCEL, IRENE CARNICERO FRUTOS Y LUCÍA RICO LÓPEZ. ANESTESIOLOGÍA Y REANIMACIÓN</td></tr></table> <p>A continuación, les señalo los acuerdos tomados por el CEIm ÁREA DE SALUD VALLADOLID ESTE en relación a dicho Proyecto de Investigación:</p> <p>Considerando que el Proyecto contempla los Convenios y Normas establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética, se hace constar el informe favorable y la aceptación del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos Área de Salud Valladolid Este.</p> <p>Un cordial saludo.</p> <p>Dr. F. Javier Álvarez. CEIm Área de Salud Valladolid Este Hospital Clínico Universitario de Valladolid Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, c/ Ramón y Cajal 7, 47005 Valladolid tel.: 983 423077</p> <p></p>			PI-FIS-21-2189	DIANAS TERAPÉUTICAS EN SEPSIS: EN BUSCA DEL ARCA PERDIDA (InDiana)	I.P.: HUGO GONZALO BENITO, EDUARDO TAMAYO GÓMEZ; EQUIPO: PEDRO MARTÍNEZ DE PAZ, ESTHER GÓMEZ SÁNCHEZ; MARÍA HEREDIA RODRÍGUEZ; ESTEFANÍA GÓMEZ PESQUERA; MARIO LORENZO LÓPEZ; JAVIER ÁLVAREZ GONZÁLEZ; EMILIO GARCÍA MORAN; EMILIO MASEDA GARRIDO, SHEREZADE TOVAR DONCEL, IRENE CARNICERO FRUTOS Y LUCÍA RICO LÓPEZ. ANESTESIOLOGÍA Y REANIMACIÓN
PI-FIS-21-2189	DIANAS TERAPÉUTICAS EN SEPSIS: EN BUSCA DEL ARCA PERDIDA (InDiana)	I.P.: HUGO GONZALO BENITO, EDUARDO TAMAYO GÓMEZ; EQUIPO: PEDRO MARTÍNEZ DE PAZ, ESTHER GÓMEZ SÁNCHEZ; MARÍA HEREDIA RODRÍGUEZ; ESTEFANÍA GÓMEZ PESQUERA; MARIO LORENZO LÓPEZ; JAVIER ÁLVAREZ GONZÁLEZ; EMILIO GARCÍA MORAN; EMILIO MASEDA GARRIDO, SHEREZADE TOVAR DONCEL, IRENE CARNICERO FRUTOS Y LUCÍA RICO LÓPEZ. ANESTESIOLOGÍA Y REANIMACIÓN			

Anexo 4: Comité de ética de la investigación con medicamentos Área de salud Burgos-Soria: La huella diferencial pronóstica de sepsis: biomarcadores endoteliales.



Complejo Asistencial
Universitario
de Burgos

Ave. Islas Baleares, 3 - 09005 BURGOS
Teléfono 947 28 18 00



COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Burgos a 28 de noviembre 2023

El Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos del Área de Burgos de Soria en su reunión del día 28 de noviembre 2023 (acta 2023/10) evaluó el siguiente estudio de investigación:

TITULO. La huella diferencial pronóstica de sepsis: biomarcadores endoteliales. Versión de protocolo 15 de noviembre 2023. Ref. CEIm 2992.

Investigador Principal: Miguel Javier Ugalde Azpiazu, MIR del Servicio de Medicina Intensiva del Complejo Asistencial Universitario de Soria.

Y CONSIDERA QUE tras la evaluación de los cambios y de las aclaraciones solicitadas:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

Este Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos considera que tanto el proyecto de investigación como la hoja de información al paciente y consentimiento informado son ética y metodológicamente aceptables.

Por lo que este CEIm emite un **DICTAMEN FAVORABLE** (28-11-2023; acta 2023/10)

Y HACE CONSTAR QUE:

1º En la reunión celebrada el día 28 de noviembre de 2023, acta 2023/10 se decidió emitir informe favorable en relación a dicho estudio.

2º En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente- Real Decreto 1090/2015 para que la decisión del citado CEIm sea válida.

3º El Comité De Ética De La Investigación Con Medicamentos Del Área De Salud De Burgos Y Soria tanto en su composición como en sus PNTs cumple con la normativa vigente y con las Directrices de la Conferencia Internacional de Armonización de las Normas de Buena Práctica Clínica (CPMP/ICH/135/95).



HE-278

4º La composición actual del Comité De Ética De La Investigación Con Medicamentos Del Área De Burgos Y Soria es la siguiente:

Presidente: D. Gregorio De La Mata Franco. Doctor en Medicina y Cirugía

Vicepresidente: D. Fernando Callejo Torre. Doctor en Medicina

Vocales:

D. Francisco Abad Santos. Doctor en Medicina

Dña. Mº Jesús Coma del Corral. Doctora en Medicina y Cirugía

D. Javier-Ángel Crespo Izquierdo. Licenciado en Derecho

D. Pedro David Delgado López. Doctora en Medicina y Cirugía

Dña. Socorro Fernández García. Doctora en Filosofía

D. Martín De Frutos Herranz. Doctor en Medicina y Cirugía

Dña. Almudena García Benito. DUE. Servicio de Farmacia

Dña. Carmen Marquina Verde. Lda. en Farmacia

Dña. Rosa Martínez Castro. Doctor en Medicina y Cirugía

Dña. Ana Cristina Marín Ramos. Licenciada en Derecho

D. Jesús Sánchez Hernández. Doctor en Psicología.

Dña. María del Carmen Tomé Elena. DUE. Formación Continuada y Docencia

D. Valentín del Villar Sordo. Doctor en Medicina y Cirugía

Secretario Técnico: D. Jorge Labrador Gómez. Doctor en Medicina

Se recuerda al investigador el requisito de solicitar a la AEMPs la publicación en el REGISTRO ESPAÑOL DE ESTUDIOS CLÍNICOS al inicio de los estudios de seguimiento prospectivo y se recomienda para el resto de estudios observacionales con medicamentos.

Además, se recuerda que se deberá actualizar la información de seguimiento en dicha plataforma y enviar las notificaciones e informes correspondientes al CEIm.

Para que conste donde proceda, y a petición del promotor

Lo que firmo en Burgos a 28 de noviembre 2023

Fdo.: Jorge Labrador Gómez
SECRETARIO TÉCNICO DEL CEIm
del Área de Burgos y Soria