

**Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños
con sepsis sometidos a reanimación hídrica con
soluciones cristaloides**

*Dedicado a: María Elvira, Juan Pablo, Daniel, Alfredo y Cecilia.
Por su incondicional apoyo, amor y motivación cada día de mi vida.*

Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con soluciones cristaloides

Investigador principal

Jaime Fernández Sarmiento. MD
Estudiante de Doctorado en Ciencias de la Salud, Universidad CES
Director UCI Pediátrica Fundación Cardioinfantil-Instituto de Cardiología
Profesor Asociado Universidad de la Sabana

Coinvestigadores

Dra. Lina María Salazar Peláez, BSc, MSc, PhD
Profesora Asociada – Investigadora
Escuela de Graduados Universidad CES

Dr. Juan Carlos Villar, MD, MSc PhD
Director Departamento de Investigaciones
Fundación Cardioinfantil-Instituto de Cardiología

Instituciones participantes

Grupo de investigación en Pediatría
Fundación Cardioinfantil- Instituto de Cardiología

Grupo de investigación en Ciencias Básicas
Línea de investigación: Biología celular y remodelación tisular
Universidad CES

Doctorado en Ciencias de la Salud
Área de profundización: Patología
Escuela de Graduados - Universidad CES

Bogotá, Marzo del 2022

Tabla de contenido

Tabla de contenido	2
Lista de tablas	6
Lista de anexos	6
1. Resumen.....	7
2. Formulación del problema	9
2.1 Planteamiento del problema	9
2.2 Justificación	11
3. Pregunta de investigación.....	15
4. Marco teórico	16
4.1 Introducción	16
4.2 Endotelio vascular.....	16
4.2.1 Estructura del endotelio vascular	17
4.2.2 Ultraestructura del glicocáliz endotelial	18
4.2.3 Funciones del glicocáliz endotelial	21
4.2.4 Marcadores de daño de la integridad endotelial	22
4.2.4.1 Marcadores de daño al glicocáliz.....	22
4.2.4.2 Marcadores de daño de la célula endotelial y muerte celular	26
4.3 Sepsis pediátrica	27
4.3.1 Definición	27
4.3.2 Epidemiología.....	28
4.3.3 Manifestaciones clínicas y criterios de severidad en sepsis	29
4.3.4 Fisiopatología de la sepsis.....	33
4.3.4.1 Papel del endotelio vascular en la fisiopatología de la sepsis	34
4.4 Estrategias terapéuticas en sepsis	37
4.4.1 Generalidades y el paquete de medidas recomendadas en sepsis	37
4.4.1.1 Evidencia del uso de reanimación hídrica en sepsis	40
4.4.1.2 Tipos de cristaloides.....	41

4.4.2	La reanimación hídrica y sus puntos de controversia.....	42
4.4.2.1	La reanimación hídrica y su efecto en el endotelio	44
5.	Hipótesis.....	46
5.1	Hipótesis de trabajo.....	46
5.2	Hipótesis alternativa (H_1)	46
5.3	Hipótesis nula (H_0)	46
6.	Objetivos.....	47
6.1	Objetivo general	47
6.2	Objetivos específicos.....	47
7.	Metodología.....	48
7.1	Enfoque metodológico	48
7.2	Tipo de estudio	48
7.3	Población de referencia.....	48
7.4	Criterios de inclusión.....	48
7.5	Criterios de exclusión	49
7.6	Diseño muestral.....	50
7.7	Tamaño de la muestra.....	50
7.8	Variables	52
7.8.1	Tabla de variables	52
7.9	Técnicas de recolección de información	55
7.9.1	Instrumento de recolección de información	55
7.9.2	Proceso de obtención de la información	56
7.9.3	Prueba piloto.....	58
7.10	Control de errores y sesgos	58
7.11	Técnicas de procesamiento y análisis de los datos.....	60
7.12	Consideraciones éticas	64

8. RESULTADOS	69
8.1 Objetivo 1.....	69
8.2 Objetivo 2.....	74
8.3 Objetivo 3.....	84
8.4 Objetivo 4.....	88
8.5 Objetivo 5.....	95
9. DISCUSIÓN.....	98
10. LIMITACIONES	106
11. CONCLUSIONES	108
12. RECOMENDACIONES.....	109
13. APROPIACIÓN CIENTÍFICA DEL CONOCIMIENTO (IMPACTO CIENTÍFICO)	110
14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113
15. Anexos	123
Anexo 1.1.....	127
16. Soporte de Publicaciones, ponencias y demás actividades de divulgación relacionadas con la tesis.	131

Lista de figuras

- Figura 1.** Micrografía electrónica del glicocálix endotelial de una vaso sanguíneo de mamífero. Pag 19.
- Figura 2.** Aproximación a representación gráfica del glicocálix. Pag 20.
- Figura 3.** Utilización del Glycocheck® como para medir *in vivo* el glicocálix. Pag 24.
- Figura 4.** Alteraciones de la coagulación en sepsis. Figura original de los autores. Pag 37.
- Figura 5.** Metodología y proceso de investigación. Pag 50.
- Figura 6.** Diagrama de variables. Pag 53.
- Figura 7.** Biomarcadores de respuesta inflamatoria, función renal, equilibrio ácido-base según el tipo de cristaloides. Datos al momento del ingreso. Pag 75
- Figura 8.** Lactato inicial entre los dos grupos de pacientes estudiados. Lactato inicial entre los dos grupos de pacientes estudiados. Pag 76
- Figura 9.** Medición de la microcirculación sublingual. Pag 77
- Figura 10.** Imágenes de la microcirculación sublingual tomadas con el videomicroscopio. Pag 78
- Figura 11.** Cambios en el PBR en los diferentes momentos de medición y tipo de solución utilizada. Pag 80
- Figura 12.** Comportamiento del PBR según tipo de solución utilizada en los tiempos de evaluación. Pag 81.
- Figura 13.** Comportamiento del sindecano-1 según el tipo de solución en los tiempos de evaluación. Pag 82.
- Figura 14.** Proporción de cambio del sindecano-1 desde su nivel basal según el tipo de cristaloides utilizado. Pag 82.
- Figura 15.** Niveles de biomarcadores de permeabilidad y apoptosis. Pag 86.
- Figura 16.** Frecuencia de acidosis metabólica de acuerdo con el tipo de solución. Pag 90
- Figura 17.** Alteraciones del glicocálix endotelial en niños con acidosis metabólica. Pag 91.
- Figura 18.** Alteraciones del glicocálix endotelial en los niños con Hipercloremia. Pag 93.
- Figura 19.** Correlación entre el nivel de albúmina y el daño de glicocálix endotelial medido con videomicroscopía luego de administrar cristaloides. Pag 94.
- Figura 20.** Nivel de PBR en niños con infección por SARS-CoV-2. Pag 96.
- Figura 21.** Nivel de PBR en la línea de base según mortalidad. Pag 96.

Lista de tablas

- Tabla 1.** Definición de Síndrome de Respuesta inflamatorio Sistémica (SRIS). Pag 29
- Tabla 2.** Definición de severidad y características clínicas de sepsis . Pag 30
- Tabla 3.** Definición de falla orgánica en sepsis. Pag 31.
- Tabla 4.** Variables consideradas en el estudio. Pag 51.
- Tabla 5.** Tabla de variables y su plan de análisis. Pag 61.
- Tabla 6.** Características demográficas, clínicas y paraclínicas basales de la población estudiada. Pag 72
- Tabla 7.** Valores de PBR en los diferentes tiempos de medición y según tipo de solución de cristaloides utilizada. Pag 79
- Tabla 8.** Valores de sindecano-1 (ng/mL) en los diferentes tiempos de medición y según tipo de cristaloides. Pag 83.
- Tabla 9.** Valores de endocan (ng/mL) en los diferentes tiempos de medición y según tipo de cristaloides. Pag 85.
- Tabla 10.** Valores de angiotensina-2 (ng/mL) en los diferentes tiempos de medición. Pag 86.
- Tabla 11.** Análisis Multivariado de alteración del glicocálix según tipo de solución utilizada. Pag 98

Lista de anexos

- Anexo 1. Consentimiento informado para la participación de investigación clínica dirigido a los padres 123
- Anexo 2. Herramienta de recolección de datos 129

1. Resumen

Introducción:

La sepsis es la vía final común de todas las infecciones graves. Ocurre por una respuesta desregulada del hospedero ante una infección. La resucitación hídrica con cristaloides es parte fundamental del tratamiento en sepsis para estabilizar la hemodinamia. Los datos actuales son insuficientes para recomendar un tipo de cristaloides específico. No se conocen las alteraciones que producen los diferentes tipos de cristaloides en el endotelio y su glicocálix (capa rica en carbohidratos que cubren la célula endotelial). El objetivo de esta investigación fue estimar la asociación entre las alteraciones en la integridad del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis y el tipo de cristaloides utilizado en reanimación hídrica.

Diseño: Estudio de cohortes prospectivo en niños críticos con sepsis que recibieron bolos de cristaloides balanceados (SB) o no balanceados (SNB), entre enero-julio del 2021.

Materiales y Métodos: Se determinó el compromiso del glicocálix endotelial midiendo la región límite perfundida (*PBR* - parámetro inverso de las dimensiones del glicocálix), usando videomicroscopía sublingual, y los niveles de biomarcador plasmático (sindecano-1, endocan). Se estimó aumento de la permeabilidad endotelial (angiopoietina-2 [Ang-2]) y la presencia de apoptosis (anexina) en los grupos. Todas las mediciones se realizaron antes, a las 2, 6 y 24 horas luego del uso de cristaloides. Se realizó regresión logística binaria controlando factores de confusión. Se consideró una $p < 0.05$ como significativa.

Resultados: Se incluyeron 66 niños con mediana de 7.5 años (RIQ 0.66-14.01). El 48.5% (32/66) recibieron SB y el 51.5% (34/66) SNB. Antes del bolo de cristaloides, se observó mayor daño del glicocálix endotelial en niños con choque séptico, frente a niños con sepsis (RR 4.14 IC95% 1.17-14.65; $p=0.04$). A las 6 horas de administrar SNB, se observó mayor daño del glicocálix (RR 5.13; IC95% 1.46 – 18.08; $p=0.01$) comparada con las SB. Adicionalmente, menor tendencia al descenso del sindecano-1 en el grupo de SNB (4% vs 10.4%; $p=0.08$), sin diferencias en el endocan ($p=0.84$). En el grupo de SNB también se encontró elevación de anexina (RR 7.61; IC 95% 1.59-36.48; $p < 0.01$) que se correlacionaron con un PBR ajustado al flujo del capilar (ρ 0.4; $p < 0.05$). El grupo de SNB cursó con incremento de la acidosis metabólica hiperclorémica asociada a elevación del sindecano-1 (RR 4.88; IC95% 1.23-28.08; $p=0.05$) y a lesión renal aguda (RR 1.7; IC95% 1.12-3.18; $p=0.05$). Controlado por factores de confusión (severidad de sepsis, score vasoactivo, escala de mortalidad PIM-2), el uso de SB tiene menos riesgo de daño del glicocálix endotelial (ORa 0,23; IC95% 0.06-0.82; $p=0.02$) con respecto a SNB. Se encontró

mayor daño del glicocálix en niños con hipoalbuminemia ($p=0.01$), delta CO_2 mayor a 6 ($p=0.03$), dímero D elevado ($p=0.05$) y en quienes fallecieron ($p=0.03$).

Conclusión: En niños con sepsis se observa pérdida importante de la integridad del glicocálix endotelial. Este daño empeora en los pacientes que reciben soluciones no balanceadas como líquidos de reanimación hídrica. El compromiso endotelial y del glicocálix en quienes recibieron estas soluciones se asoció a aumento de la permeabilidad vascular, acidosis metabólica hiperclorémica, lesión renal aguda y muerte celular.

Palabras clave: *endotelio, fluidoterapia, matriz extracelular, permeabilidad vascular, proteoglicanos.*

2. Formulación del problema

2.1 Planteamiento del problema

La sepsis es una causa importante de morbimortalidad pediátrica, a pesar de los avances realizados en las estrategias de detección e intervención temprana. En efecto, este síndrome afecta a uno de cada cuatro niños que ingresan a terapia intensiva, con una cifra de mortalidad cercana al 25%, de acuerdo al sitio de ocurrencia (1). En esa medida, la reanimación hídrica constituye una de las estrategias terapéuticas más importantes empleadas en pacientes que cursan con sepsis, puesto que permite optimizar la presión de perfusión tisular y mejorar la entrega de oxígeno a los tejidos. Dicha estrategia involucra el empleo de cristaloides balanceados y no balanceados. Estas soluciones están indicadas en pacientes que tienen signos de mala perfusión, tanto de la macrocirculación como de la microcirculación (2).

A nivel de la microcirculación, el órgano que se afecta en las etapas iniciales de la enfermedad es el endotelio. Esta estructura juega un papel fundamental en la fisiopatología de la sepsis pues se lesiona por los procesos inflamatorios y hemostáticos asociados a esta condición (2). Por ejemplo, gran parte de los mediadores inflamatorios que se liberan en la sepsis (e.g. leucotrienos, tromboxano A₂, factor de necrosis tumoral alfa, factor activador de plaquetas) ocasionan cambios estructurales del endotelio que inducen vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular y la extravasación de líquidos al espacio intersticial (2,3). La consecuencia más importante de estos fenómenos es un estado de hipovolemia relativa (i.e. sin pérdidas aparentes) que favorecen la mala perfusión periférica, lo que lleva a hipoperfusión tisular y falla orgánica en niños con sepsis (3-9).

En todos los vasos sanguíneos, el endotelio se encuentra cubierto por una capa rica en carbohidratos cargados negativamente que se conoce con el nombre de glicocálix (10). Esta capa, ubicada en la superficie luminal del endotelio, está constituida por proteoglicanos (PG), glicosaminoglicanos (GAG) y glicoproteínas (11). Desde la perspectiva funcional, el glicocálix no solo se comporta como una capa protectora de la célula endotelial, más allá de ello, esta estructura regula la permeabilidad de diversas moléculas desde y hacia el espacio intersticial. Adicionalmente regula los procesos asociados a la filtración glomerular y, además, es un elemento fundamental para la mecanotransducción vascular (i.e. detección y transducción de fuerzas mecánicas) (12). De la misma manera, regula el hematocrito (i.e. flujo sanguíneo hacia los capilares), los procesos de adhesión celular al

endotelio (i.e. de plaquetas y leucocitos) y la hemostasia sosteniendo un fenotipo antiadherente de esta estructura (11-13).

Por otra parte, en población adulta en fases iniciales de la sepsis, con frecuencia, se observa que el endotelio y su glicocálix se lesionan (13). Determinar si existe lesión de esta estructura, de manera directa o indirecta, se convierte en un objetivo fundamental para conocer el grado de compromiso de la microcirculación en esta enfermedad. Sin embargo, el glicocálix no puede ser observado (i.e. medido) de manera directa. Por este motivo, se han desarrollado técnicas especiales que emplean un videomicroscopio intravital en tiempo real, las cuales permiten visualizar el espacio que existe entre los eritrocitos y el endotelio en los vasos sublinguales y retinianos; de este modo, se puede determinar la amplitud que corresponde al glicocálix. Adicionalmente, la integridad de esta capa puede evaluarse a través del uso de biomarcadores plasmáticos que se liberan a la circulación sistémica cuando existe daño en su estructura (14).

En este sentido, se ha encontrado que la elevación de la concentración plasmática del sindecano-1 y del endocan se relacionan directamente con el daño y la pérdida de la integridad del glicocálix endotelial. Se han reportado alterados en estudios preclínicos y en adultos con trauma (15), sepsis (16) diabetes y también en pacientes en estados de hipervolemia (17,18). Igualmente, para evaluar la microcirculación de manera integral en pacientes con sepsis, es importante medir biomarcadores que indiquen daño específico de la célula endotelial, como es el caso de la angiopoietina-2. Esta proteína, en condiciones de inflamación como la sepsis, es un marcador útil de activación endotelial y aumento de la permeabilidad vascular (19). Otro biomarcador que indica activación endotelial y específicamente el inicio de la muerte celular es la anexina A5. Se ha encontrado que esta elevada en pacientes con sepsis como indicador de inicio de la respuesta inflamatoria y del daño celular (20-22).

En ese orden de ideas, la medición *in vivo* de la microcirculación y de los biomarcadores de lesión del glicocálix (sindecano-1, endocan), así como de daño endotelial (angiopoietina-2, anexina A5), no solo resultan de utilidad para determinar compromiso de la microcirculación en pacientes con sepsis, sino que podrían ser empleados como biomarcadores predictivos de respuesta al tratamiento en estos mismos niños. Adicionalmente, consideramos que las intervenciones terapéuticas encaminadas a estabilizar la presión de perfusión tisular, de las cuales el uso rutinario de reanimación hídrica con cristaloides es un tipo, podrían afectar la integridad endotelial y del glicocálix. Podrían existir varias causas que expliquen este daño. Dentro de ellas, el cambio del microambiente endotelial y del glicocálix relacionado con la

acidosis metabólica e hipercloremia que inducen algunas de estas soluciones. A este respecto, en ensayos clínicos de adultos y estudios observacionales en pediatría, se ha encontrado una importante asociación entre el uso de cristaloides no balanceados, presencia de falla renal aguda y necesidad de terapias de reemplazo renal (23-26). Pero, no se conoce cuál es la explicación biológica de estos fenómenos. Tampoco se sabe si los efectos secundarios relacionados con el uso de estas soluciones (e.g. la mayor frecuencia de acidosis metabólica hiperclorémica, previamente descrita) estén relacionados con alteración del endotelio y su glicocálix (24,25).

Teniendo en cuenta estas consideraciones, es momento de decir que la reanimación hídrica con cristaloides está siendo cuestionada en lo concerniente a su composición (23). Además, los efectos de esta estrategia terapéutica sobre la integridad endotelial y del glicocálix en niños con sepsis son desconocidos. Por supuesto, esta ausencia de conocimiento repercute en el establecimiento de lineamientos objetivos para el desarrollo de la práctica clínica. Hasta el momento, las recomendaciones en las guías de sepsis, sobre el tipo de cristaloides que debe usarse en reanimación hídrica, están basadas en la opinión de expertos, dado que los ensayos clínicos de adultos y estudios observacionales en pediatría han arrojado resultados contradictorios (23-26).

Adicionalmente, el potencial daño de los cristaloides sobre el glicocálix endotelial se ha observado en estudios preclínicos, pero no se ha evaluado en seres humanos y existe este vacío del conocimiento. Asimismo, el daño del glicocálix endotelial tendría varias consecuencias clínicas relacionadas con la pérdida de sus funciones fisiológicas. Por ejemplo, se incrementaría el edema intersticial observado en niños con sepsis y, además, se magnificaría la respuesta inflamatoria sistémica, el estado protrombótico y la muerte de las células del endotelio vascular en niños con esta condición (3,7). Todos estos fenómenos se han asociado a incrementos en la frecuencia de falla orgánica múltiple y mortalidad (3,23,27).

Por tal motivo, este trabajo pretende estimar las alteraciones en el glicocálix endotelial y su integridad (*in vivo* y a través de biomarcadores), en el contexto de la reanimación hídrica con cristaloides balanceados y no balanceados en niños sépticos que son ingresados a una unidad de cuidados intensivos pediátricos de un hospital universitario.

2.2 Justificación

Para empezar, la sepsis constituye uno de los problemas de salud más importantes, pues se calcula que es la responsable del 7% del total de muertes infantiles a nivel global. (25)

Esta condición ocurre en uno de cada cuatro pacientes que ingresan a cuidados críticos, afectando a cerca de 1.2 millones de niños cada año (7). La mortalidad por sepsis en este grupo etario es variable, oscilando entre el 4% y el 50%, dependiendo de la severidad de la enfermedad, los factores de riesgo y la localización geográfica (7). En países de altos ingresos, investigaciones recientes sugieren menor mortalidad (31.7%), cuando se compara con países de medianos o bajos ingresos (19.3%). Particularmente, cuando afecta a niños en África (7.89 veces), Asia (3.8 veces) y Suramérica (2.9 veces) existe mayor riesgo de morir, cuando se compara con los niños con sepsis en Norteamérica (27). Además, constituye un problema económico que consume una cantidad importante de recursos del sistema de salud que, por ejemplo, para el caso de Estados Unidos es de alrededor de 4.000 millones de dólares al año (27).

El estudio SPROUT, por su parte, ha realizado una descripción detallada del comportamiento de esta enfermedad en la población infantil (1). Esta investigación multicéntrica (en la que participaron 26 países y 128 unidades de Cuidado Intensivo Pediátrico) fue realizada entre el año 2013 y 2014, y evaluó a 6.925 pacientes con sepsis, observando una cifra de mortalidad global del 25%. Se encontró que las intervenciones inadecuadas (reconocimiento tardío, reanimación hídrica sin metas claras e inicio no oportuno de antibióticos) derivaron en el desarrollo de falla multiorgánica en el 30% de los pacientes. Adicionalmente, un 17% de los niños que sobrevivió al proceso experimentó una discapacidad moderada a corto plazo, predominantemente de tipo respiratoria, hemodinámica y neurológica.

En Colombia, Jaramillo-Bustamante y cols. (28) reportaron un comportamiento epidemiológico similar de la enfermedad. La tasa global de mortalidad estimada fue del 18%, considerando los principales factores de riesgo asociados a este desenlace, a saber, ser menor de dos años, presencia de choque o falla orgánica múltiple y etiología bacteriana. Al igual que el estudio SPROUT, en este estudio la presencia de secuelas o de discapacidad moderada fue frecuente, afectando a cerca del 15% de los niños estudiados.

En esa medida, dada la carga de morbimortalidad asociada a la sepsis, las secuelas frecuentes y los costos relacionados con su atención, tanto el diagnóstico temprano como la implementación oportuna y adecuada del tratamiento resultan de vital importancia para modificar el curso clínico de la misma (29). Estas intervenciones se han descrito como un paquete de medidas o *Bundle* de sepsis que incluyen oxigenoterapia, reanimación hídrica precoz, así como la administración de vasoactivos y antimicrobianos de manera rápida (30). En lo que respecta a la reanimación hídrica, esta tiene por objetivo mejorar la perfusión

tisular a través de la administración de cristaloides (balanceados o no) y/o coloides, y es considerada un pilar fundamental en la estrategia terapéutica dirigida a controlar y modificar el curso clínico de la enfermedad.

Sin embargo, dicha intervención podría tener efectos adversos relacionados con sus condiciones de administración (e.g. composición, dosis y tiempo), los cuales podrían explicarse por la interacción de los cristaloides con el endotelio vascular (3). Para aclarar este vacío del conocimiento buscamos realizar esta investigación. En efecto, diversos estudios han demostrado que ciertos tipos de cristaloides empeoran la condición clínica de los pacientes, debido a que se magnifica la respuesta inflamatoria y, con ello, se produce un incremento de la vasodilatación y la permeabilidad vascular (23,24). Esto en definitiva tiene un efecto negativo en la perfusión tisular de algunos órganos vitales. Asimismo, la reanimación hídrica podría generar un estado de hipervolemia relativa, particularmente en pacientes con disfunción miocárdica de base, llevando a estos niños a sufrir edema pulmonar, falla respiratoria hipoxémica y muerte (31).

Con base en ello, se requiere de evidencia científica que permita revisar los lineamientos sugeridos en las guías de práctica clínica con respecto al tratamiento de la sepsis en niños (como aquellos contruidos por la Sociedad Americana de Cuidado Crítico). Particularmente, construir evidencia con aproximaciones basadas en la medición de las alteraciones en la microcirculación relacionadas con el uso de cristaloides y sus efectos sobre los desenlaces clínicos en niños con sepsis (7). Es válido resaltar que esta estrategia es innovadora, desde cualquier punto de vista, dado que la aproximación hasta ahora ha sido siempre basado en el análisis del compromiso de la macrocirculación. Consideramos, que realizar una aproximación más holística en la cabecera del paciente, que incluya en análisis del daño de la macro y microcirculación permitiría tener una aproximación más integral al compromiso hemodinámico en niños con sepsis.

Este nuevo enfoque, desde la microcirculación, permite fortalecer la medicina translacional (entre las biociencias y las ciencias clínicas) buscando explicaciones biológicas que relacionen el daño del endotelio y su glicocálix como una de las explicaciones de los efectos adversos relacionados con el uso de algunos cristaloides que han encontrado los ensayos clínicos de adultos (26). Al aclarar estos aspectos buscamos racionalizar las intervenciones relacionadas con la reanimación hídrica y así contribuir a modificar guías de práctica clínica que mejoren los resultados de los niños con sepsis (7,25).

Por lo tanto, buscamos determinar, dentro de la historia natural del daño del glicocálix en niños con sepsis, cuál es la asociación del uso de estos cristaloides con alteraciones a nivel

de endotelio y su glicocálix, por medio de la medición con videomicroscopía sublingual *in vivo* del mismo y de algunos biomarcadores plasmáticos liberados durante su lesión. Esperamos que los resultados de esta investigación proporcionen mejores herramientas a los clínicos para establecer cuál es la mejor estrategia posible de reanimación hídrica, y de esta forma, mejorar los desenlaces clínicos en niños con sepsis.

3. Pregunta de investigación

¿Cual es, en la historia natural de niños con sepsis que son sometidos a reanimación hídrica con cristaloides balanceados y no balanceados, la asociación entre el tipo de cristaloides utilizado y la integridad del endotelio vascular, su glicocálix y el curso clínico durante su estancia en Cuidado Intensivo Pediátrico?

4. Marco teórico

4.1 Introducción

La sepsis es uno de los problemas infecciosos más frecuentes en niños y una de las principales causas de morbilidad (32). Es una condición compleja con compromiso sistémico que se caracteriza por afectar a todos los grupos etarios, desde la etapa neonatal hasta la edad adulta, con consecuencias funcionales graves y con un consumo considerable de recursos propios del sistema de salud. La reanimación hídrica con cristaloides es un pilar fundamental en el manejo de la condición, la cual busca optimizar la entrega de oxígeno y evitar que la enfermedad progrese.

El endotelio, por su parte, es el principal encargado de mantener estos líquidos en el espacio intravascular; sin embargo, con frecuencia es uno de los órganos que primero se ve afectado por los procesos inflamatorios, protrombóticos y fibrinolíticos asociados a la sepsis (2). Un componente fundamental dentro de la estructura endotelial, que ayuda a cumplir sus funciones, es el glicocálix. Esta pequeña capa que recubre el lado intraluminal del endotelio se encarga, entre otras funciones, de evitar el paso de líquidos del espacio intravascular al extravascular. De acuerdo con recientes descripciones, este se ve afectado en los pacientes sépticos, lo que explicaría las alteraciones vasculares y la extravasación de líquido frecuentemente observadas. A continuación, se describirán las características del endotelio, el glicocálix endotelial, la sepsis y sus controversias, específicamente con el uso de la reanimación hídrica.

4.2 Endotelio vascular

El endotelio vascular es una pequeña capa de células que recubre el lado endoluminal de los vasos sanguíneos (2). En un individuo normal, si se pudiera aislar todo este órgano de manera selectiva, tendría un peso de 1 kg y un área de 1 m² a 7 m². Su nombre proviene del griego *endo*, que significa dentro, y *thelio*, que significa curva o bucle. Ha pasado de considerarse una simple capa celular de los vasos sanguíneos a dársele la importancia que realmente tiene como órgano responsable del tono vascular, la hemostasia y el intercambio de solutos y líquidos con la célula (33). La disfunción del endotelio es responsable de enfermedades tan graves y sistémicas como la aterosclerosis, la sepsis, la diabetes, la hipertensión arterial y la trombosis, entre otros.

Como se ha mencionado, su principal función es mantener el flujo sanguíneo sistémico y la perfusión tisular a través de la regulación del diámetro de los diferentes vasos sanguíneos, de modo que controla el tono vascular mediante la producción de óxido nítrico, prostaciclina y factor hiperpolarizante del endotelio que son vasodilatadores. Estas sustancias están en íntimo equilibrio con otro grupo de moléculas mediadoras de la vasoconstricción tales como la endotelina-1, la angiotensina II y el tromboxano A2 (33).

4.2.1 Estructura del endotelio vascular

Tal y como se ha descrito antes, el endotelio es el responsable de formar la capa interna de los vasos sanguíneos. Está constituido por células endoteliales, que generalmente son planas, aunque pueden ser cuboides, y con un grosor variable que va de 0.1 μm en capilares y venas, hasta 1.0 μm en la aorta, la arteria más importante del organismo (34,35). Estas células están fuertemente unidas para cumplir su función, a través de complejos multiproteicos llamados uniones intercelulares.

Ahora bien, existen varios tipos de uniones intercelulares, pero las más importantes en el endotelio son las uniones fuertes u ocluyentes, llamadas *zona occludens*, y las uniones débiles o adherentes denominadas *zona adherens*. Las primeras están constituidas por proteínas como las claudinas, las ocludinas y las moléculas de adhesión intercelular. La *zona adherens*, por el contrario, solo está constituida por una proteína transmembrana denominada cadherina. El transporte de la célula endotelial hacia el espacio intersticial normalmente se realiza por vía paracelular en el 90% de los casos, y por vía transcelular en el 10%, todo ello mediante un número importante de vesículas y caveolas ubicadas a lo largo de la superficie luminal de la célula, que son capaces de moverse a la cara basal de la misma para cumplir con su función (36).

El endotelio está cubierto por una fina capa similar a un gel denominado glicocálix. Esta estructura es la responsable de contribuir a que el endotelio cumpla la mayoría de sus funciones y está distribuida en todos los órganos de la economía corporal de manera continua, discontinua o fenestrada, lo que le permite regular en mayor o menor medida el paso de líquidos y moléculas al espacio intersticial.

4.2.2 Ultraestructura del glicocálix endotelial

El glicocálix es una fina capa que recubre el interior de los vasos sanguíneos de los seres humanos, desde los capilares hasta las arterias y venas, formando así una interface entre las células endoteliales y el flujo sanguíneo (13,37). Fue descrito inicialmente por Luft en 1966, cuando se pudo observar mediante el uso de la microscopía electrónica y tinciones especiales, como el rojo de rutenio y el azul de anciano; con el primero, se observa como un material amorfo o grumoso, mientras que con el segundo tiene la apariencia de una malla de finos filamentos (ver Figura 1) (38).

Asimismo, constituye una porción estructural del endotelio que contribuye de manera fundamental a mantener la integridad del mismo (39); su grosor puede cambiar dependiendo de su ubicación y los vasos sanguíneos estudiados, pero suele oscilar entre 0.1 y 1.0 μm . En cultivos de células endoteliales se ha logrado aislar desde la primera semana. En modelos animales, tanto en condiciones fisiológicas como en aquellas de índole patológico (tal y como aquellas en pacientes sépticos), se ha observado que, luego de su lesión aguda, se necesitan de cinco a siete días para su restauración endógena y recupere su funcionalidad (40).

El glicocálix está constituido por proteoglicanos (PG), glicosaminoglicanos (GAG) y glicoproteínas que constituyen los componentes *no solubles* dependientes de la célula endotelial (41). Dentro del componente proteoglicano, entre un 50% al 90% corresponde a aquellos derivados del heparán sulfato (e.g. sindecanos, glipicanos, perlecanos), los cuales están anclados a la célula endotelial a través del dominio transmembranal de su core proteico (ver Figura 2) (13,37). Además, estos se consideran el eje principal del glicocálix, a los cuales están unidas las cadenas de GAG que llevarían a la producción de PG solubles, los cuales están ubicados en la parte superior de esta estructura. Cabe decir que el ácido hialurónico es un GAG no sulfatado que se encuentra en la parte más superficial del glicocálix (no está unido a las proteínas del núcleo) y no se considera que haga parte de la columna vertebral de los PG, siendo sintetizado y degradado a una velocidad de 5 gr por día (42-44).

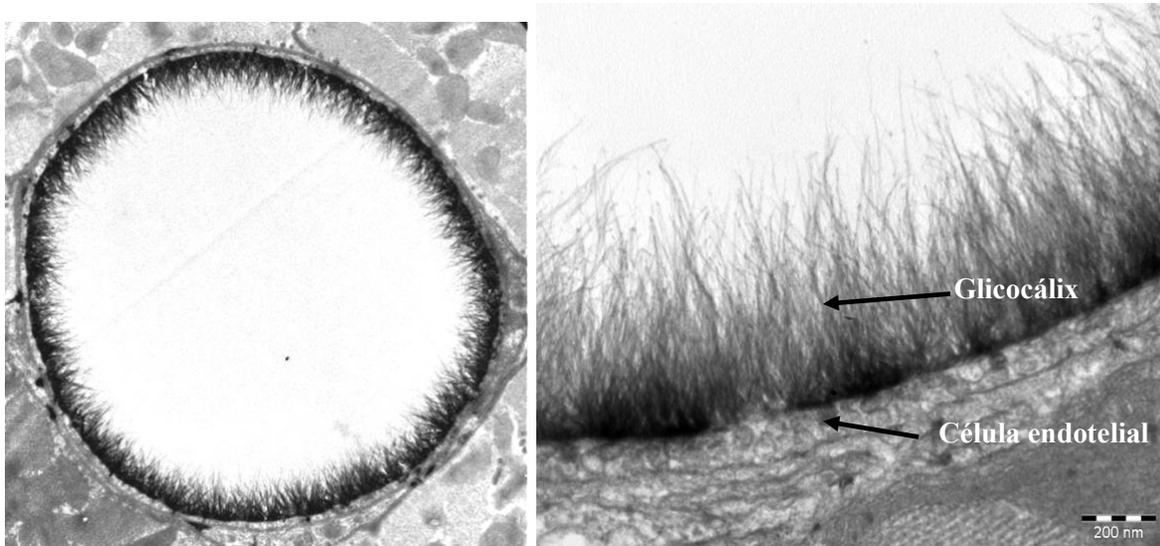


Figura 1. Representación del glicocálix endotelial. Cortesía y con autorización de Van den Berg BM, Nieuwdorp M, Stroes ESG, Vink H. Endothelial luminal glycocalyx: Protective barrier between endothelial cells and flowing blood. In: Aird WC, editor. Endothelia

Los GAG contienen varios sitios de unión para proteínas derivadas del plasma y se considera que pequeñas modificaciones bioquímicas de este puede tener consecuencias funcionales importantes, particularmente en circunstancias que pueden llevar a disminuir el grosor del glicocálix. El componente de glicoproteínas está dominado por moléculas de adhesión (e.g. selectina-E, selectina-P, integrinas), así como complejos proteicos relevantes en hemostasia (complejo glicoproteína Ib-IX-V que se une al factor de von Willebrand y a la P-selectina), mediando la interacción de las plaquetas con las células endoteliales activadas (45). La Figura 2A que se va a presentar a continuación representa al glicocálix sano y su relación con algunas células intravasculares, mientras que la Figura 2B es una magnificación de la imagen anterior, en la que se observa la estructura microscópica y los componentes del glicocálix.

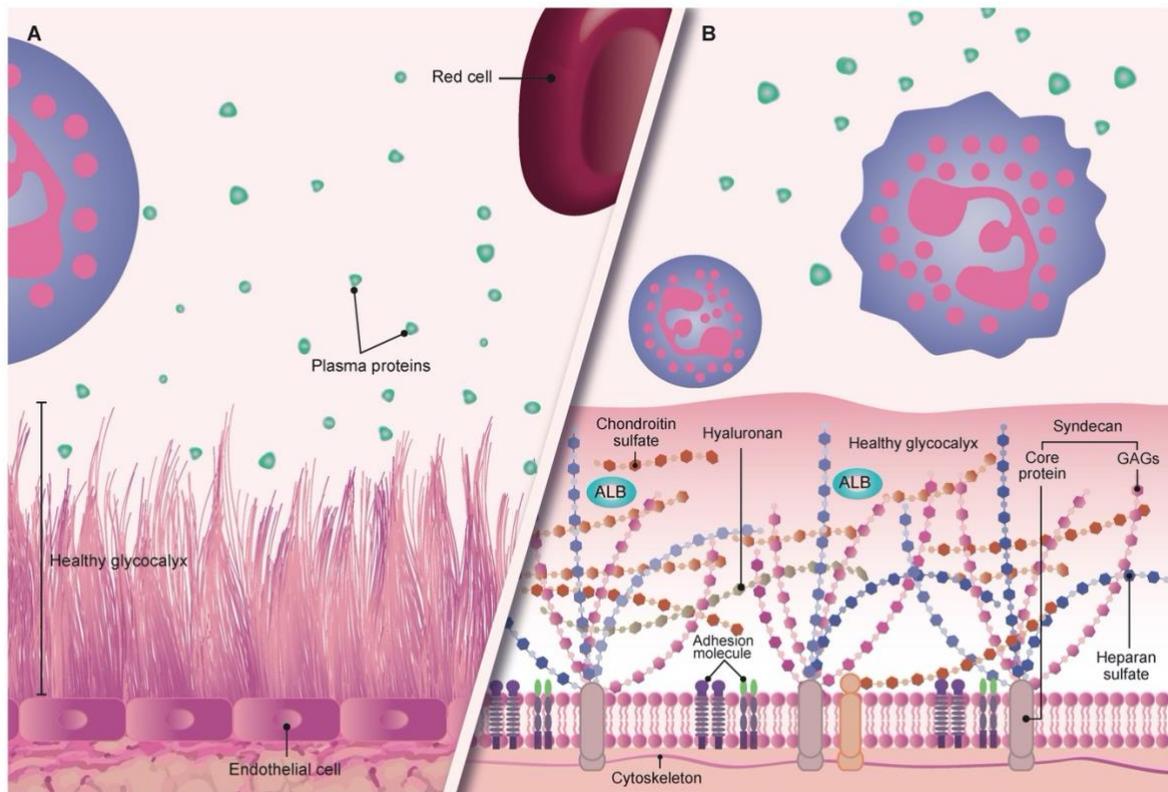


Figura 2. Aproximación a representación gráfica del glicocálix. A. Representación gráfica del glicocálix normal y su relación con proteínas y células. B. Estructura del glicocálix representando sus principales componentes como sindecano, GAGs (glicosaminoglicanos) y glicoproteínas. ALB (albúmina). Figura original de los autores. Tomado de *Pediatric Critical Care Medicine* 2020; 21:e291–e300.

Adicionalmente, el glicocálix tiene un componente soluble que interactúa con aquellos anclados a la célula endotelial, estando en un equilibrio dinámico con el flujo sanguíneo, según sean las condiciones especiales del microambiente, como el pH y la producción del componente *insoluble* por la célula endotelial (42). El componente soluble del glicocálix está constituido por un amplio rango de moléculas como proteínas y proteoglicanos que son producidos por el endotelio o vienen de la circulación sistémica. En esa medida, pueden ligarse al componente unido a la célula endotelial a través de receptores o enzimas (receptor del factor de crecimiento de fibroblastos, lipoproteína lipasa y lipoproteínas de baja densidad), o también uniéndose a los GAG, en particular al heparán sulfato, que

contiene abundantes sitios de unión para proteínas, en virtud de sus patrones específicos de sulfatación (46,47).

4.2.3 Funciones del glicocálix endotelial

Desde la perspectiva funcional, el glicocálix no solo se comporta como una capa protectora de la célula endotelial, ya que regula la permeabilidad de diversas moléculas desde y hacia la célula endotelial, así como los procesos asociados a la filtración glomerular. Además, es un elemento fundamental para la mecanotransducción vascular (i.e. detección y transducción de fuerzas mecánicas) (48), al igual que actúa en la regulación del hematocrito (i.e. flujo sanguíneo hacia los capilares), los procesos de adhesión celular al endotelio (i.e. de plaquetas y leucocitos) y la hemostasia (20,24-27), como se explica a continuación.

Una de las funciones más importantes que cumple el glicocálix endotelial es la regulación de la permeabilidad al agua y a los solutos (2, 20, 49). En efecto, Van Haaren y Cols. demostraron que esta estructura es la responsable de los cambios en la permeabilidad del agua, inducidas por fuerzas de tensión; por lo que su integridad es la responsable de proteger del edema (50). De la misma manera, Heinrich y cols. han demostrado que algunas citoquinas proinflamatorias (como el factor de necrosis tumoral alfa, que se encuentra elevado en pacientes con sepsis) pueden lesionar el glicocálix, contribuyendo a incrementar la permeabilidad vascular y afectando la perfusión tisular (51).

Por otra parte, se sabe que el glicocálix tiene un papel clave en la mecanotransducción de las fuerzas inducidas por el flujo sanguíneo en las células endoteliales, particularmente de estrés y fuerzas de cizallamiento, las cuales son determinantes de la morfología y funcionalidad del endotelio (43,52,53). Lo que han encontrado las investigaciones en modelos animales, es que esta función la realizan todos los componentes del glicocálix. No obstante, el heparán sulfato y el ácido hialurónico tiene un papel fundamental en la detección y amplificación de las fuerzas de cizallamiento, tal y como lo evidenciaron Mochizuki S y cols (23). Estos autores, empleando modelos caninos, demostraron que la liberación de óxido nítrico por la célula endotelial estaría regulada, entre otros, por el glicocálix y esto controlaría los cambios en la estructura del endotelio relacionado con las fuerzas de *shear-stress*. Lo anterior indica que el glicocálix tendría efectos vasculoprotectores, mediados por la liberación de óxido nítrico, favorecidos por estas fuerzas de *shear-stress*, lo mismo que por la inhibición de la adhesión leucocitaria y la activación de la coagulación en diferentes circunstancias fisiológicas y patológicas, como puede ocurrir en pacientes con sepsis (24,31,32).

De la misma manera, el glicocálix regula el paso de macromoléculas, como las lipoproteínas de alta densidad y la albúmina, hacia el espacio extravascular (12, 30, 33). La parte más superficial del glicocálix tiene una carga negativa asociada a los GAG, que contienen gran cantidad de grupos carboxilos y sulfatos. Muchas de las proteínas que se encuentran en el plasma, como la albúmina, tienen una carga negativa también, lo que haría que la capa de glicocálix genere repulsión electroestática, lo que a su vez evita su paso al espacio intersticial; esta situación está influenciada, en parte, por el grosor del glicocálix, el cual cambia de acuerdo con la región de los vasos sanguíneos en la que se encuentre ubicado (54). Recientemente, Ueda A y cols., en cultivo de células endoteliales bovinas, encontraron que el paso de la albúmina fuera del espacio intravascular, relacionado con aumento en las fuerzas de *shear-stress* aplicadas de forma exógena, dependen del grosor del glicocálix y la carga negativa de la superficie (53).

De acuerdo con lo anterior, el glicocálix tiene un papel fundamental en el paso de líquido y macromoléculas del espacio intravascular al espacio intersticial e intracelular, con un importante espectro de manifestaciones clínicas cuando se encuentra alterado (55). Con su descubrimiento, se replanteó la teoría del capilar propuesta en 1886 por el fisiólogo británico Ernest Starling y ha permitido, de alguna manera, complementarla. En este sentido, con la evidencia actual se considera que en los vasos sanguíneos de alta presión intravascular se mantiene el flujo sanguíneo gracias a las estrechas uniones endoteliales y al gradiente de presión oncótica que produce el glicocálix, en virtud de su carga negativa de la superficie. En sentido opuesto, en los vasos sanguíneos de baja presión existe un intercambio altamente efectivo de nutrientes y productos de desecho, debido al paso libre de los constituyentes del plasma hacia las células, gracias a los bajos gradientes de presión hidrostática y oncóticas determinados por el glicocálix (56).

4.2.4 Marcadores de daño de la integridad endotelial

4.2.4.1 Marcadores de daño al glicocálix

El glicocálix endotelial puede ser evaluado de manera directa e indirecta. *In vivo* el glicocálix no puede ser observado de manera directa, por lo que se han desarrollado técnicas especiales que permiten visualizar el espacio que existe entre los eritrocitos y el endotelio de vasos sublinguales y retinianos; de esta manera, se determina la amplitud que corresponde al glicocálix (43,44). Recientemente, se ha desarrollado un novedoso videomicroscopio con software incorporado (*Glycocheck System*® - *Microvascular Health*

Solutions Inc 2014, Salt Lake City, UT, USA) que, utilizando los vasos sublinguales, permite evaluar la microcirculación al establecer la región límite perfundida (*PBR* de sus siglas en inglés), la cual se relaciona de manera inversamente proporcional con el tamaño del glicocálix; en otras palabras, un *PBR* alto indica menor grosor del glicocálix. A este respecto, se ha demostrado que el *PBR* se encuentra muy elevado en pacientes críticos al comparar su valor con sujetos sanos (14) (ver Figura 3). En pacientes con sepsis se considera que un *PBR* mayor de 2.0 μm es indicativo de lesión severa del glicocálix endotelial.

De igual manera, este videomicroscopio intravital para análisis en tiempo real evalúa vasos de 5 a 25 micras de diámetro, utilizando una cámara de campo oscuro (*CapiScope®*, HVCS, KK Technology Reino Unido) que emite diodos estroboscópicos (efecto óptico de iluminar con destellos objetos que se mueven a gran velocidad) de luz verde que detectan los glóbulos rojos por reflexión. Asimismo, amplía 325 veces la imagen con resolución de 720 pixeles y establece 23 cuadros por segundo. El software (*Glycocheck System®* - *Microvascular Health Solutions Inc, Salt Lake City, UT, USA*), realiza mediciones en imágenes de alta calidad (en términos de movimiento, intensidad, enfoque). Para ello, define segmentos vasculares de 10 μm y graba 40 cuadros (300 segmentos de color verde que son aquellos con medición completa). El operador mueve la cámara entre 5 a 10 posiciones diferentes y puede tomar hasta 3.000 segmentos vasculares. El software calcula el índice límite de perfusión (*PBR*) que es el borde exterior de la luz que es perfundida y cuyo valor mayor a 2.0 micras indica lesión severa del glicocálix. Adicionalmente, mide el *RBCW* que es la concentración y densidad de glóbulos rojos pasando por el vaso sanguíneo, tal y como se muestra en la Figura 3. Esta medición toma en promedio de 2 a 3 minutos. Mientras que el *PBR* es la región límite perfundida, el *RBCW* corresponde al ancho de los glóbulos rojos.

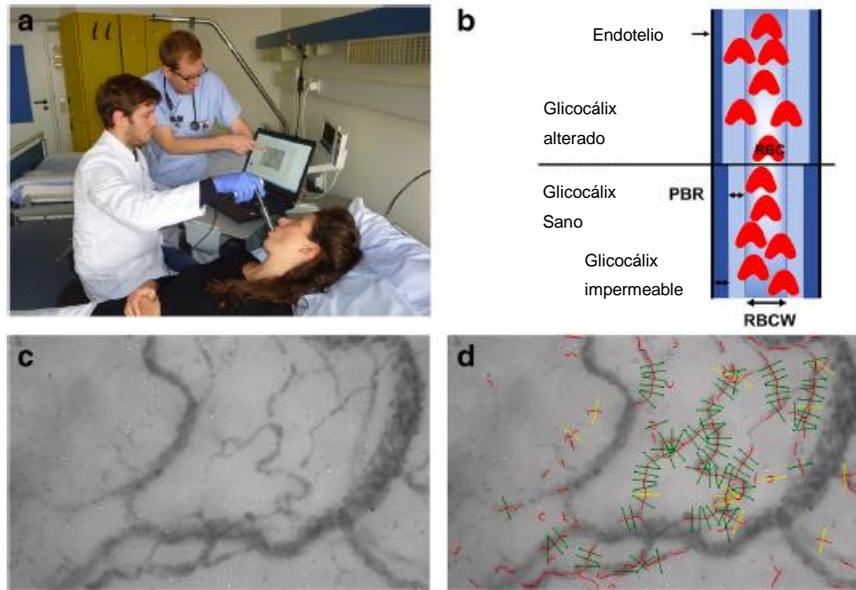


Figura 3. Utilización del *Glycochek*® como dispositivo para medir *in vivo* el glicocálix. A. Proceso de medición del glicocálix a nivel sublingual con el videomicroscopio. B. Distancia entre el glóbulo rojo y el glicocálix descrito como PBR o región límite perfundida (por sus siglas en inglés *Perfusion boundary región*). C. Imagen tomada por el videomicroscopio de capilares y vénulas. D. Líneas rojas indicando segmento vascular que el software no pudo procesar y líneas verdes que son aquellas que fueron completadas y permitieron los cálculos del PBR. Tomado y traducido de referencia (14).

De la misma manera, se ha tratado de medir la lesión del glicocálix mediante la utilización de biomarcadores plasmáticos que permitan establecer de manera rápida la presencia de alteración o no del mismo. A continuación, se discuten los principales biomarcadores, tales como el sindecano- 1, sindecano- 4, el endocan y el heparán sulfato.

1. Sindecano -1: Es uno de los proteoglicanos más importantes dentro de la estructura del glicocálix; sus niveles circulantes en plasma se relacionan con daño endotelial y degradación del mismo (45). Al respecto, Rehm y cols. investigaron las alteraciones que ocurrían en pacientes sometidos a cirugía de aorta ascendente con el sindecano-1, y encontraron que en la fase de reperfusión temprana, luego del arresto circulatorio, puede encontrarse un incremento en sus niveles séricos, que puede ser 42 veces superior respecto a la línea de base (57). González y cols. obtuvieron hallazgos similares en pacientes con trauma, en quienes niveles de sindecano-1 mayores a 40 ngr/ml han sido asociados a peores desenlaces, con mayor necesidad de transfusiones, y a un mayor riesgo de mortalidad, frente a

quienes las cifras no superan dicho nivel (58). Los valores fisiológicos están dentro del rango de 8 ngr/ml a 256 ng/ml, debido al recambio permanente y la producción endotelial de todos los componentes solubles y no solubles del glicocálix. Sin embargo, en pacientes con sepsis niveles mayores a 80 ng/ml se han correlacionado con mayor severidad y compromiso multiorgánico (47,48,59).

2. Sindecano-4: Es un proteoglicano que tiene funciones importantes relacionadas con el mantenimiento de las uniones entre la célula y la matriz extracelular. La interacción entre estas dos, está mediada por los denominados focos de adhesión que son responsables de regular la migración transcelular. Esta función se cumple junto a las integrinas y, adicionalmente, el dominio intracitoplasmático del sindecano-4 activa varias vías de señalización mediadas por la vía del fosfatidilinositol, proteína quinasa, entre otros. Estudios en modelos animales han demostrado la elevación de sindecano-4 frente a estímulos inflamatorios e infecciosos, como la presencia de lipopolisacárido de bacterias gram negativas, indicando activación y lesión por algunas metaloproteasas de matriz. Niveles séricos elevados se correlacionan con la presencia de daño del glicocalix y la pérdida de la función de las moléculas de adhesión (47,48).
3. Heparán sulfato: es un proteoglicano que puede elevarse en pacientes críticos. (31,48,49). Particularmente en pacientes con sepsis, se han encontrado niveles cuatro veces superiores a los observados en controles sin infección, en postoperatorio de neurocirugía (19). Por su parte, Nelson y cols. describieron la elevación del heparán sulfato en pacientes sépticos, la cual no se correlacionó con los niveles plasmáticos de IL-6 o IL-10, ni con alteraciones de tipo cardiovascular ni renal; no obstante, los niveles de heparán sulfato fueron tres veces más altos en los pacientes que murieron (18).
4. Endocan: Es un proteoglicano producido por la célula endotelial que hace parte de los componentes solubles del glicocálix y se ha encontrado elevado en pacientes que cursan con respuesta inflamatoria sistémica. Además, en pacientes con sepsis, unos niveles mayores a 6.2 ngr/ml tienen una sensibilidad del 75% y especificidad del 84% para predecir mortalidad, por lo que se constituye en un biomarcador prometedor que relaciona la lesión del glicocálix y los desenlaces en pacientes sépticos (36).
5. Heparanasa: Este biomarcador se ha encontrado elevado en pacientes con cáncer o en individuos con diabetes (58,59). Martin L y cols. encontraron niveles elevados

de la enzima en 18 casos de pacientes con choque séptico desencadenado por una infección bacteriana, en comparación a los niveles de 10 controles sanos (55). Se considera que, aunque puede ser un buen indicador de lesión del glicocáliz, este es inespecífico y debería limitarse para algunos grupos particulares, como los pacientes diabéticos.

4.2.4.2 Marcadores de daño de la célula endotelial y muerte celular

Como se ha descrito, el endotelio cumple funciones importantes que permiten que la sangre fluya con normalidad, se mantenga la hemostasia y es una de las primeras líneas de defensa vascular ante agresiones. Estructuralmente, el endotelio puede ser discontinuo o continuo; en este último, existen uniones intercelulares estrechas que son de dos tipos, por un lado, uniones apretadas o *zónula occludens* (del inglés *tight junctions*) y uniones adherentes o *zonula adherente* (del inglés *adherens junctions*), como se describió previamente (18). En la *zonula occludens* participan las claudinas, las ocludinas y las moléculas de adhesión.

En este sentido, cuando se alteran las uniones intercelulares, se incrementa la permeabilidad vascular, con paso de líquidos, proteínas y células desde el espacio intravascular al intersticial. Uno de los biomarcadores descritos para detectar el aumento de la permeabilidad vascular es la angiopoietina-2 (Ang-2). Esta proteína es un factor de crecimiento que interactúa con el receptor de tirosin-kinasa (Tie-2). Tiene 496 aminoácidos y comparte el 60% de aminoácidos con la angiopoietina-1 (Ang-1). A diferencia de esta, su acción es autocrina y regula los efectos de la Ang-1 antagonizando el receptor. Normalmente, su liberación se aumenta por la acción de diferentes mediadores inflamatorios y la trombina, lo mismo que en estados de hipoxia y en enfermedades oncológicas (19).

En condiciones inflamatorias (e.g. sepsis), la Ang-2 se eleva e interactúa con proteínas de unión intercelular endotelial (e.g. cadherina), inactivándolas y favoreciendo el aumento de la permeabilidad vascular. Adicionalmente, promueve la angiogénesis, condición asociada a inflamación aguda y crónica. Por lo tanto, la Ang-2 ha sido considerado un biomarcador de activación de la célula endotelial y de aumento de la permeabilidad vascular (19). De hecho, los niveles de la proteína se han correlacionado de manera inversa con los niveles de óxido nítrico. Es decir, a mayor cantidad de óxido nítrico, menor nivel de Ang-2. El exceso de óxido nítrico, induce vasodilatación sistémica en sepsis, lo que sería una forma de proteger el endotelio vascular para evitar aumento de la permeabilidad inducida por Ang-2

ante el aumento de la vasodilatación. En modelos animales se encontró que existía una correlación inversa entre los niveles de Ang-2 y el grosor del glicocálix endotelial. Al parecer, tiene actividad de heparanasa en pacientes con sepsis e induciría degradación del glicocálix endotelial. En seres humanos, no se conoce las repercusiones que tendría la elevación de la Ang-2 en dicha estructura (19).

Por otro lado, la anexina A5 es una proteína plasmática que tiene fuerte afinidad por la fosfatidilserina, un fosfolípido de la membrana celular (20,21). Cuando la célula sufre muerte celular programada (i.e. apoptosis) la fosfatidilserina se externaliza y, por ende, se une a la anexina A5, lo que la convierte en un biomarcador de apoptosis. Particularmente en enfermedades cardiovasculares y aquellas relacionadas con lesión endotelial posterior a inflamación y estrés celular (22). Al parecer, la anexina A5 también está implicada en la inhibición de la coagulación, pues compite con la protrombina por la unión de los sitios de fosfatidilserina e inhibe la actividad de la fosfolipasa A1.

4.3 Sepsis pediátrica

4.3.1 Definición

Antes de 1990 no se tenía una definición unificada de sepsis, palabra derivada del latín que significa “pútrido” (60). Hasta ese momento, esta se conocía con diferentes nombres, entre ellos: síndrome de sepsis, septicemia, choque séptico, etc. Por supuesto, esto dificultaba el que se pudieran realizar estudios clínicos que fueran extrapolables a las diferentes poblaciones. Fueron Rogers y cols. quienes, en abril de 1990, realizaron el primer consenso sobre la definición de sepsis en adultos, el cual fue extendido a la población pediátrica; en ese momento, se sugirió el término Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) como la base para definir la enfermedad, pero que podría ser explicado por muchas entidades de tipo tumoral, traumático o infeccioso (61). Si este SRIS se asociaba a hemocultivos positivos, entre otros criterios, se consideraba que el paciente cursaba con sepsis. A esta definición hoy se le llama Sepsis-1, para hacer referencia a que fue la primera aproximación de consenso para esta condición. Con el propósito de impactar y mejorar los desenlaces, incluyendo la disminución de la mortalidad, en el 2007 se realizó el segundo consenso denominado Sepsis-2 que buscaba actualizar conceptos, así como definir alternativas de prevención o estrategias diagnósticas y terapéuticas con la mejor evidencia disponible. Por aquella época, la mortalidad en las diferentes series oscilaba en adultos y niños entre el 30% y el 60% de acuerdo a la serie revisada (25,62).

Ahora bien, en los pacientes pediátricos la definición de sepsis también ha venido cambiando. Durante muchos años se aceptó y extrapoló la definición de adultos de Rogers y cols. Pero, esto se replanteó en el año 2005, cuando Goldstein y cols. construyeron la definición consenso que adaptó el término a los pacientes en edad pediátrica y a sus diferentes variables fisiológicas; dicha definición es aquella aceptada en la actualidad (63) (ver Tabla 1). A pesar de los avances científicos y el desarrollo de métodos de diagnóstico más precisos y rápidos, la enfermedad sigue siendo uno de los problemas más importantes y frecuentes en los pacientes críticos, razón por la cual, en el año 2014, se realizó una nueva reunión que agrupó a varias sociedades científicas, en la que buscó actualizar la definición y revisar las estrategias diagnósticas o aproximaciones terapéuticas con objetivos claros, como describiremos más adelante. Por aquella época nació el concepto de *Bundle* o paquete de medidas que, realizadas en conjunto, tendrían un mayor impacto de aquel obtenido si lo hicieran de manera individual; con esto se buscó reducir aún más la mortalidad y modificar el curso clínico de la enfermedad (64,65).

4.3.2 Epidemiología

Hoy en día, la sepsis en pacientes en adultos sigue siendo la principal causa de ingreso a cuidados intensivos, con una mortalidad del 28% de acuerdo con la gravedad de presentación (26). Además, afecta a uno de cada cuatro pacientes pediátricos en cuidado crítico. La Sociedad Americana de Cuidado Crítico ha realizado varias reuniones de consenso en aras de mejorar la atención e identificación temprana de la sepsis para reducir su mortalidad. La primera de ellas se realizó en el año 2002, luego en 2007 y en el año 2014, con resultados y conclusiones publicadas en el año 2017, que indican que la mortalidad infantil por sepsis pediátrica se redujo del 96% al 9%; cifra mucho menor que la informada para la población adulta (28%) (25). No obstante, la incidencia de la enfermedad no ha cambiado en los últimos 20 años y sigue afectando de 0,5 a 0,8 niños por cada 1.000 habitantes cada año, solo en los EE.UU. (cerca de 42.000 casos / año). Además, en este país se ha estimado que se realizan 100.000 consultas al año por sepsis severa en los servicios de urgencias y que el costo anual para el sistema de salud estadounidense, derivado de la atención de la sepsis pediátrica, es cerca de 50 millones de dólares (27). Es allí donde la intervención oportuna, que depende de una detección temprana, así como una reanimación hídrica adecuada, puede modificar el curso clínico de la enfermedad y lograr reducir hasta un 50% de la mortalidad, de acuerdo con los hallazgos de Han y cols. (1). Adicionalmente, utilizando estrategias de reconocimiento temprano, reanimación hídrica

adecuada, inicio rápido de antibiótico y vasopresores, tal y como lo demostraron Fernández y cols., se logra una reducción de 11.9 a 7.6 días en la estancia hospitalaria y de 20.5% a 7.1% la necesidad de ventilación mecánica en niños con sepsis severa y choque séptico que consultan a urgencias (66).

4.3.3 Manifestaciones clínicas y criterios de severidad en sepsis

Es muy importante tener en cuenta que la sospecha clínica y un examen físico detallado permiten detectar los signos precoces que indican que el paciente tiene un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica en curso y que este se debe a una infección; es decir, que está cursando con sepsis (32). La presentación clínica puede variar ampliamente dependiendo de muchos factores, entre ellos: la edad del niño, el foco de la infección, el organismo responsable y las comorbilidades asociadas. Estos síntomas y signos pueden ser bizarros y, con mucha frecuencia, no específicos. Por esta razón, se ha intentado relacionarlos con signos que sugieran el denominado Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (*SRIS*) para delimitarlo. En niños, este síndrome requiere la presencia de al menos dos de cuatro criterios, de los cuales por lo menos uno debe ser fiebre o leucocitosis (25,67) (ver Tabla 1).

Por otro lado, en población pediátrica la presencia de taquicardia es uno de los signos más frecuentes e importantes, porque indica que el paciente está intentando compensar su bajo gasto cardíaco con un aumento de la frecuencia cardíaca. No obstante, la bradicardia suele ser otra manifestación y, con frecuencia, un signo ominoso de ritmo de colapso tipo asistolia porque, cuando está presente, significa que se han agotado todos los mecanismos compensatorios adrenérgicos habituales. De la misma manera, la taquipnea suele ser frecuente, pero puede ser explicada por un número importante de problemas. Empero, cuando es sostenida, asociada al uso de músculos accesorios de la respiración y acompañada de otros signos de *SIRS*, suele ser indicativa de que el paciente está intentando estabilizar un trastorno de oxigenación severo con un aumento de la frecuencia respiratoria, (61). En la medida en que la enfermedad avanza, sin ser identificada o controlada, esta progresa a sepsis severa (ver Tabla 2), que es la presencia del síndrome con disfunción de un órgano, que suele ser cardiovascular o respiratorio, pero también puede verse afectado el sistema hematológico, el renal, el neurológico y el tracto gastrointestinal.

Tabla 1. Definición de Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) (68)

SIRS
La presencia de al menos dos de los cuatro siguientes criterios, uno de los cuales debe ser anormalidad en temperatura o conteo de leucocitos.
Temperatura corporal de > 38.5 ° C o <36 ° C.
Taquicardia, definida como frecuencia cardíaca > 2 SD por encima de lo normal para la edad, en ausencia de estímulo externo, uso crónico de drogas, estímulos dolorosos u otras circunstancias que la expliquen por un periodo de 30 minutos a 4 horas.
Para niños menores de 1 año, bradicardia, definida como una media de la frecuencia cardíaca menor al percentil 10 para edad en la ausencia de estímulo vagal, β-bloqueadores o enfermedad cardíaca congénita durante media hora.
Polipnea, definida como frecuencia respiratoria > 2 SD por encima de lo normal para la edad, o requerimiento de ventilación mecánica en un proceso agudo no relacionado con enfermedad neuromuscular subyacente o la administración de anestesia general.
Leucocitosis o leucopenia para la edad (no secundaria a quimioterapia) o > 10% neutrófilos inmaduros.

Es fundamental agregar que, en la sepsis severa, el sistema cardiovascular suele estar afectado y se caracteriza por la presencia de taquicardia asociada a signos de mala perfusión, como es el caso de llenado capilar prolongado (mayor a dos segundos), alteraciones del estado de consciencia, oliguria y/o pulsos centrales y periféricos débiles o diferenciales que suelen responder a reanimación hídrica cuando esta se inicia a tiempo.

Tabla 2. Definición de severidad y características clínicas de la sepsis (68)

Sepsis
SRIS en presencia de o como resultado de o ante sospecha o demostración de infección.
Sepsis Severa o grave
Sepsis más uno o más de los siguientes síntomas:

Disfunción cardiovascular o Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA) o disfunción de otros órganos.
Choque séptico
Sepsis severa junto con la presencia de disfunción cardiovascular sin respuesta a reanimación hídrica y que requiere el inicio de fármacos vasoactivos.
Síndrome de falla orgánica múltiple (sfom)
La presencia de falla de dos o más órganos en pacientes con choque séptico.

En este orden de ideas, además de síntomas respiratorios, que suele ser la taquipnea, si el foco infeccioso es respiratorio (como ocurre en el 56% de los casos de sepsis en niños) pueden manifestarse síntomas como tos, rinorrea y distrés respiratorio. Suele asociarse a signos de consolidación como crépitos, egofonía y matidez a la percusión, con excursión diafragmática limitada en caso de pacientes que cursan con neumonía. A nivel hematológico, renal y neurológico, la sintomatología suele ser bizarra y habitualmente se presenta en fases avanzadas de la enfermedad, como sangrado, isquemia de extremidades, oliguria indicando lesión renal aguda, así como alteraciones de la consciencia, debilidad muscular y convulsiones (ver Tabla 3). Cuando la enfermedad avanza y pasa de sepsis severa a choque séptico, el signo característico es la presencia de compromiso cardiovascular manifestado por taquicardia, mala perfusión e hipotensión que no responde a reanimación hídrica y necesita el uso de fármacos vasoactivos. En esta fase de la enfermedad, posiblemente se han agotado muchos de los mecanismos compensatorios que evitan que el estado de profunda hipoperfusión comprometa órganos vitales como el corazón, cerebro y riñón (ver Tabla 3).

En los últimos años dado la baja sensibilidad de la definición que involucra SRIS y la controversia que existe en su capacidad de identificar a los pacientes con sepsis, se está trabajando en una nueva definición que permita ser más operativa y diferenciar las características operativas (SRIS) de lo que realmente es la sepsis. Se están realizando revisiones sistemáticas y encuestas en todo el mundo que buscan identificar cuales es el concepto más aceptado. Se espera que en el año 2022 se tenga una definición actualizada de sepsis en niños.

Tabla 3. Definición de Falla Orgánica en sepsis (68)

Falla de órgano
<p>Cardiovascular: cuando a pesar de la administración de bolos completando mínimo 40 ml / kg en 1 hora:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Se presenta hipotensión, definida como tensión arterial sistólica menor al percentil 5 para la edad o 2 SD por debajo de lo normal para edad. ● Necesidad de drogas vasoactivas para mantener la presión arterial en el rango normal. ● Dos de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> -Acidosis metabólica inexplicable: Déficit de Base mayor a 5,0 mEq/L. -Aumento del lactato arterial dos veces el límite superior de la normal. -Oliguria, entendida como la producción de orina menor o igual a 0,5 ml / kg / hr. -Tiempo de llenado capilar menor a cinco segundos. -Diferencia de temperatura central a periférica mayor a 3 °C.
<p>Respiratorio:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● PaO₂/FIO₂ (PAFI) <300, en ausencia de cardiopatía o enfermedad pulmonar preexistente. ● PaCO₂ 65 torr o 20 mm Hg más de referencia PaCO₂. ● Requerimiento de 50% FiO₂ para mantener la saturación 92% ● Necesidad de ventilación mecánica invasiva o no invasiva.
<p>Neurológica:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Glasgow menor o igual a 11, o cambio agudo en el estado mental con una disminución de la puntuación de Glasgow en tres puntos de la línea de base.
<p>Hematológica:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Plaquetas ≤ 80.000/mm³, o una disminución del 50% en el conteo de plaquetas más alto registrado en los últimos tres días (para las patologías hematológicas crónicas / o pacientes oncológicos). ● INR ≥ 2.
<p>Renal:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Creatinina sérica dos veces el límite superior para la edad, o elevación de dos veces la basal.
<p>Hepática:</p>

- Bilirrubina total de 4 mg/dl, o ALT dos veces el límite superior de la normal para la edad.

4.3.4 Fisiopatología de la sepsis

Tal y como se ha descrito en líneas anteriores, la sepsis es un SRIS asociado a infección. Para que esto ocurra, debe existir la exposición a un agente disparador, que usualmente son endotoxinas bacterianas, pero también pueden ser moléculas de naturaleza viral, o mananos fúngicos, los cuales interactúan con las células del sistema inmune innato como los monocitos, los macrófagos y las células dendríticas, que expresan lo que se ha denominado Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRR) (70). Estos receptores se han descrito como responsables de iniciar la cascada inflamatoria y están ubicados a nivel de la membrana plasmática de las células del sistema inmune (receptores tipo Toll-like, y de lectina tipo C), o a nivel del citoplasma (receptores similares al dominio de unión al nucleótido, y del gen inducible tipo 1 del ácido retinoico), los cuales interactúan con los denominados *Patrones Moleculares Asociados a Patógenos* (PAMPS), dentro de los que se encuentran el lipopolisacárido de bacterias gram negativa y el ácido lipoteicoico de las gram positivas, así como con moléculas endógenas denominadas *Patrones Moleculares Asociados a Daño* (DAMP). La interacción de estos receptores y sus respectivos ligandos activa vías de señalización que inducen la respuesta inflamatoria (61).

En el caso de los receptores Toll (TLR), una vez se une el ligando participan una serie de moléculas intracelulares con función de adaptación (tales como el TIRAP, MyD88), que se unen al dominio intracitoplasmático del TLR y llevan a la liberación del factor de transcripción nuclear kappa beta (NF- κ B) por la disociación del complejo IKK alfa beta. Este factor se transloca al núcleo y estimula la codificación de citoquinas proinflamatorias a través de la inducción de transcripción de genes y la constitución del denominado *inflammasoma*, que promueve la maduración de interleucina (IL) 1- β e IL-18, que llevan a la formación de poros que facilitan la entrada de agua y electrolitos ocurriendo la muerte celular (70).

En este sentido, las citoquinas más importantes han sido el factor de necrosis tumoral alfa (FNT-alfa), la IL-1 β y la IL-6; de manera característica, estas inducen la activación del endotelio y lesión del glicocálix, y así permiten que los leucocitos migren, a través de la inducción de la expresión de moléculas de adhesión endoteliales, particularmente del grupo de las E selectinas, de manera que ocurra la extravasación leucocitaria (2,71). En esta fase

fisiopatológica de la sepsis, derivado del compromiso endotelial y otros factores, se libera el factor tisular que activa el sistema de la coagulación, por lo que se favorece un estado procoagulante y antifibrinolítico que predispone a la formación de microtrombos a nivel capilar; estos a su vez comprometen aún más la entrega de oxígeno a los tejidos, de modo tal que se produce la liberación de radicales libres, los cuales son los responsables, en gran medida, de muchas manifestaciones clínicas de índole cardiovascular, respiratoria y renal (72).

Por otra parte, los denominados receptores activados por la proteasa (PAR) forman el enlace molecular entre la coagulación y la inflamación. Entre los cuatro subtipos que se han identificado, PAR1 ha sido implicado en la sepsis. Este receptor ejerce efectos citoprotectores cuando se estimula con proteína C activada, con o bajas dosis de trombina, pero produce disrupción de barrera de la célula endotelial cuando se activa por altas dosis de esta. Además, en modelos animales de sepsis se ha observado que el efecto protector de la proteína C activada depende de su capacidad para activar PAR1 y no de sus propiedades anticoagulantes (70).

Ahora bien, varios mecanismos conllevan a disfunción multiorgánica y entre ellos la alteración en la entrega de oxígeno a los tejidos resalta como uno de los factores clave en este proceso. La entrega de oxígeno puede comprometerse por hipotensión, menor deformabilidad de los glóbulos rojos, trombosis microvascular, entre otros determinantes; además de que en la respuesta inflamatoria *per se* genera disfunción endotelial, que se acompaña de pérdida de la integridad de la barrera, lo cual desencadena escape de líquido al espacio intersticial (25, 36).

4.3.4.1 *Papel del endotelio vascular en la fisiopatología de la sepsis*

El endotelio está constituido por una única capa de células que recubren el interior de los vasos sanguíneos y conforman la interfase entre la sangre y los tejidos. Las células endoteliales realizan una serie de funciones que son muy importantes para la economía corporal, para la biología vascular y para mantener el equilibrio del espacio intra y extravascular (36). Este es un órgano metabólicamente activo, y una de sus responsabilidades fundamentales es mantener el balance entre los estados vasodilatador y vasoconstrictor, frente a los diferentes estímulos fisiológicos o en situaciones patológicas. Sin embargo, se han considerado otras funciones fundamentales del endotelio, como la modulación de la coagulación, del flujo microvascular y de la extravasación leucocitaria, así como de la expresión de las moléculas de adhesión (33).

En efecto, una de las responsabilidades más importantes del endotelio es mantener el flujo vascular evitando que se active el sistema de la coagulación. En otras palabras, el endotelio mantiene un fenotipo “anti-adherente” que mantiene el flujo vascular. En condiciones normales, la hemostasia está determinada por el equilibrio entre los factores procoagulantes (fases celulares de la coagulación, antes conocidas como la cascada de la coagulación), los anticoagulantes (proteína C, proteína S, trombomodulina) y los fibrinolíticos (plasminógeno y plasmina). Tradicionalmente, la sepsis se ha considerado un estado procoagulante y antifibrinolítico, en el que existe una tendencia natural a formar coágulos que obstruyen la microcirculación y favorecen la hipoperfusión y generación de radicales libres de oxígeno lo que puede desencadenar el síndrome de falla orgánica múltiple (2). Es importante mencionar que, en condiciones normales, el endotelio evita la formación de esta microtrombosis y la alteración de la perfusión tisular por varios mecanismos (71), como los que a continuación se describen:

1. Expresión de trombomodulina, una glicoproteína de la membrana de las células endoteliales, que se fija a la trombina formando el complejo denominado trombomodulina-trombina, el cual tiene potente efecto anticoagulante al impedir el paso de fibrinógeno a fibrina, con lo que no se inhibe la formación del coágulo. Adicionalmente, la trombomodulina ejerce su potente efecto anticoagulante uniéndose a la proteína C (y su cofactor, la proteína S), con lo que aumenta más de 20.000 la actividad de esta proteína que inactiva a los factores Va y VIIIa de la coagulación.
2. Glicocálix y su componente fundamental, los proteoglicanos de heparán sulfato, que se encuentran en la superficie celular anclados a la célula endotelial a través del dominio transmembranal de su core proteico. Estas estructuras potencian la acción de la antitrombina III y del inhibidor del factor tisular(13).
3. Producción y liberación del activador tisular del plasminógeno que estimula el paso del plasminógeno a plasmina, la cual destruye el coágulo estable de fibrina.
4. Inhibición de la agregación de plaquetas por efectos del óxido nítrico y de la prostaciclina.
5. La ausencia de expresión de moléculas de adhesión endotelial en condiciones no inflamatorias
6. Síntesis de enzimas que degradan la adenosina que es un agonista plaquetario como la difosfatasa de adenosina.
7. Regulación del tono vascular por la producción de óxido nítrico y prostaciclina.

No obstante, en los pacientes con sepsis existe activación de las células endoteliales que inducen un estado procoagulante por disminución de la síntesis de la trombosmodulina, lo que disminuye la actividad de la proteína C, la antitrombina III y, por lo tanto, es menor la actividad inhibitoria sobre las moléculas procoagulantes (18). De la misma manera, existe una menor actividad del inhibidor del activador tisular del plasminógeno y, en consecuencia, predomina la actividad de este, con mayor producción de plasmina y una mayor degradación de la fibrina (ver Figura 4). En el paciente con sepsis, todos los mecanismos anteriormente descritos, en los cuales el endotelio tiene un papel fundamental, llevan al estado tradicionalmente descrito en sepsis, es decir, *estado procoagulante y antifibrinolítico* (60).

Una vez que se inicia este proceso de inflamatorio, así como la activación de la coagulación, en la célula endotelial ocurre la expresión en su superficie de las moléculas de adhesión, principalmente el grupo de las P-selectinas, E-selectinas, moléculas de adhesión intercelular y moléculas de adhesión vascular-1. En esta fase del proceso fisiopatológico, las células endoteliales interactúan con los leucocitos circulantes, produciéndose la marginación, rodamiento, adhesión firme y transmigración leucocitaria, de manera que estas células alcancen los sitios lesionados. Pero, aunque esto amplifica la respuesta inflamatoria para eliminar o controlar la noxa, los leucocitos activados liberan moléculas con actividad proteolítica, así como radicales libres de oxígeno, que magnifican la lesión inducida en sepsis, lo que desencadena la falla orgánica múltiple (36).

Por otra parte, los mecanismos de daño del endotelio en la sepsis son variados y están relacionados con lo siguiente (2, 13, 62, 73):

- Activación de los polimorfonucleares con liberación de enzimas proteolíticas (como la elastasa y la lactoferrina) que son estimuladas por citoquinas, como el factor de necrosis tumoral alfa.
- Inducción directa de apoptosis de la célula endotelial por el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-6.
- Inducción de muerte celular por disminución de los niveles de ATP de las células endoteliales, en el contexto de los fenómenos de isquemia/reperfusión que desencadenados por procesos protrombóticos y fibrinolíticos.
- Activación del complemento por la interacción de la proteína C y la fosfolipasa A2, liberada de la membrana celular de las células endoteliales lesionadas, lo que magnifica la respuesta inflamatoria y la liberación de factor tisular.

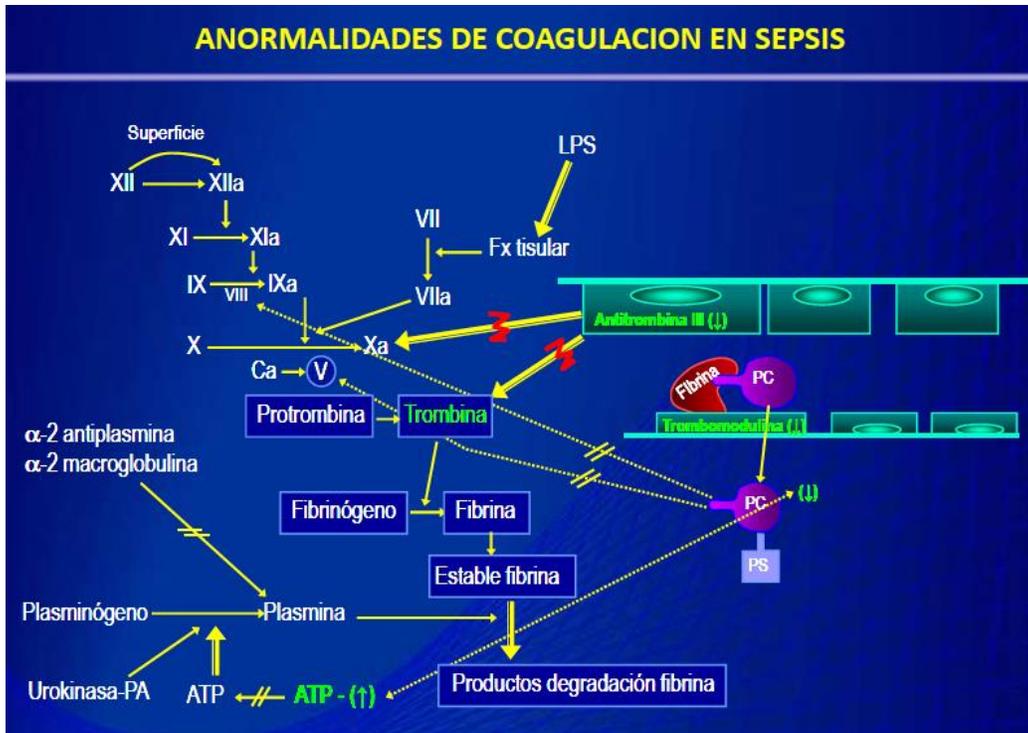


Figura 4. Alteraciones de la coagulación en sepsis. Figura original de los autores. Se observa la cascada de la coagulación clásica y los factores anticoagulantes liberados del endotelio. *PC*: proteína C. *PS*: proteína S. *ATP*: activador tisular del plasminógeno. *LPS*: lipopolisacárido.

Todos los mecanismos descritos anteriormente permiten entender que el endotelio es un órgano que juega un papel fundamental en las fases iniciales de la fisiopatología de la sepsis, de tal manera que su disfunción es característica y necesaria para que se magnifique la respuesta inflamatoria y ocurran una serie de eventos a nivel de la coagulación, del complemento y de la vía de las caspasas, que lleva a que la condición progrese. Es decir, que ocurra un fenómeno *in crescendo* que conduzca a falla de múltiples órganos, lo que, en definitiva, explica la alta mortalidad de la sepsis, a pesar de los múltiples esfuerzos que se han hecho para buscar modular esta respuesta inmune inadecuada.

4.4 Estrategias terapéuticas en sepsis

4.4.1 Generalidades y el paquete de medidas recomendadas en sepsis

Es oportuno reiterar que la sepsis sigue siendo un problema importante que condiciona un gasto significativo de recursos y una morbilidad y mortalidad elevadas (28). A pesar de los

avances que se han hecho en distintas áreas de la medicina, incluido el desarrollo de antimicrobianos, no se han logrado disminuir, de manera contundente, las consecuencias clínicas de la condición, incluidas las cifras de mortalidad (74). No obstante, se han identificado una serie de intervenciones que, realizadas en conjunto, pueden tener un mayor impacto sobre los desenlaces clínicos, que lo observado si se usan de manera individual. Este paquete de medidas realizadas de manera simultánea recibe el nombre de *bundle* (66,75,63).

El *bundle* en sepsis, según el más reciente consenso de la condición, debe considerar aspectos como el reconocimiento temprano, la reanimación hídrica precoz y el acceso vascular IDEM, el inicio de antibiótico en las primeras tres horas de identificada la condición y la administración rápida de vasoactivos . Recientemente, Fernández-Sarmiento y cols. en una cohorte prospectiva, demostraron que luego de una intervención educativa sobre el *bundle* de sepsis podría modificarse la estancia hospitalaria, con una reducción de 2.6 días/paciente, alterando así el curso clínico de la enfermedad (66). Asimismo, Paul y cols. demostraron que con la aplicación de estos cinco elementos del *bundle* en sepsis pediátrica podrían reducir la mortalidad de un 4.0 a un 1.7%, en un hospital de tercer nivel en países desarrollados (64).

Cabe destacar que la identificación temprana incluye un alto índice de sospecha, porque con frecuencia los signos y los síntomas con los que se presenta el paciente suelen ser inespecíficos y, en muchas oportunidades, no es claro el foco infeccioso. Por esta razón, se ha considerado que, en la población infantil, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémico resulta fundamental para hacer el diagnóstico de sepsis cuando se está frente a una enfermedad infecciosa, independientemente de su foco u origen. Además, evaluar oportunamente las alteraciones en la frecuencia cardíaca (taquicardia y/o bradicardia) es importante porque es un signo que indica que la macrocirculación está intentando compensar una demanda de oxígeno aumentada (25, 68).

En efecto, a diferencia de los adultos, quienes frente a una noxa que condicione disfunción miocárdica tratan de mantener el gasto cardíaco con taquicardia y dilatación ventricular, en niños el fenómeno más frecuentemente observado es la taquicardia, pero con cambios en la resistencia vascular sistémica. De hecho, el bajo gasto cardíaco con alta resistencia vascular sistémica se asocia más con la mortalidad infantil que en adultos. En los adultos, la baja resistencia vascular sistémica, que lleva a parálisis vasomotora, es la responsable de la mayoría de las muertes por choque séptico. Por esta razón, un objetivo terapéutico

que mejora los resultados en cuanto a la tasa de mortalidad infantil se refiere es buscar un índice cardíaco de 3.3 a 6.0 lit/min, con saturación venosa central mayor a 70% (25).

Otro componente importante del *bundle* de sepsis en niños es el inicio rápido de antibióticos que combatan la infección. Rivers y cols., demostraron que en pacientes adultos una terapia dirigida con objetivos claros, que incluía el inicio de antibióticos en la primera hora luego de iniciada la hipotensión, reducía en más de un 18% la mortalidad (76). Lamentablemente, estos hallazgos no son extrapolables a pediatría porque los niños suelen tener mecanismos compensatorios autonómicos frente a un estado de choque, que les hace mantener una adecuada presión arterial para sostener la presión de perfusión tisular. No obstante, cuando estos mecanismos se agotan, ocurre el choque hipotensivo que es un signo ominoso de colapso cardiovascular en pediatría. Recientemente, Weiss y cols. demostraron que la administración de antibióticos en las primeras tres horas de identificada la enfermedad se asocia con una reducción de cuatro veces la mortalidad por sepsis en niños (1).

De la misma manera, el inicio de vasoactivos juega un papel importante dentro de los componentes del *bundle* pediátrico. En los servicios de urgencias y hospitalización, cuando un paciente ha recibido adecuada reanimación hídrica y persiste la hipotensión, se necesita el inicio de un soporte farmacológico con inotrópicos y/o vasopresores, de acuerdo con el estado hemodinámico que esté predominando, pues la demora en el inicio de este se ha asociado a peores desenlaces y una mayor mortalidad. Un factor que condiciona este retraso en el inicio del soporte hemodinámico, con mucha frecuencia, es la falta de un acceso venoso central. Por esta razón, una de las principales recomendaciones del consenso del 2017 es que la falta de un acceso central no debe retrasar el inicio de soporte vasoactivo. Solo debe tenerse en consideración que el medicamento vasoactivo debe diluirse en un volumen diez veces mayor para disminuir el riesgo de quemaduras en la piel o tejidos, en caso de extravasación. En este sentido, el objetivo es contrarrestar un fenómeno frecuente en estos niños: la liberación masiva de óxido nítrico de la célula endotelial por el estímulo de muchas citoquinas, lo que induce un estado de vasodilatación profunda sistémica, con la consecuente hipovolemia relativa (relación continente/contenido) y pobre perfusión tisular (25).

Finalmente, la reanimación hídrica rápida y adecuada en términos de composición, dosis y tiempo de administración es un pilar fundamental del *bundle* pediátrico (5, 77). El propósito es optimizar el volumen sanguíneo y la presión de perfusión de los tejidos, en la medida en que con ello mejora la oferta de oxígeno y se modifica el curso clínico, de tal forma que

contrarresta los efectos de la enfermedad a nivel de la macrocirculación. El consenso, basado en la recomendación de expertos y pocos estudios clínicos, sugiere que debería ofrecerse una reanimación hídrica vigorosa con volúmenes de 20 ml/kg en cinco minutos, cuando el paciente presenta sepsis severa y /o choque séptico (25). Igualmente, se recomienda utilizar cristaloides (solución salina o lactato de Ringer) o coloides (dextran, gelatinas, albúmina al 5%) y deberían colocarse hasta que el paciente presente crépitos o hipoxemia, sugestivos de edema pulmonar, hepatomegalia o disminución del índice de presión de perfusión tisular (índice de presión de perfusión tisular = presión arterial media – presión venosa central). No obstante, si al momento de reconocer la sepsis severa y/o choque séptico el paciente presenta hepatomegalia o edema pulmonar no debería recibir bolos de cristaloides, sino considerar el inicio de soporte inotrópico (65).

4.4.1.1 Evidencia del uso de reanimación hídrica en sepsis

Las primeras recomendaciones del uso de reanimación hídrica con cristaloides en niños con sepsis se hicieron en 1991 (78). En ese tiempo, el Dr. Carcillo y cols. demostraron que los pacientes que llegaban a urgencias con choque séptico y recibían al menos 40 ml/kg de cristaloides isotónicos en la primera hora de presentación tenían mejores desenlaces clínicos y menor mortalidad, en comparación de aquellos no lo recibían. Posteriormente, en el año 2002, la Organización Mundial de la Salud recomendó que los pacientes con choque por dengue en etapa III y IV debían recibir reanimación hídrica vigorosa en el servicio de urgencias, porque esta se asociaba a sobrevida del 100% en este grupo de niños. Más adelante, Maitland y cols. demostraron una reducción de la mortalidad en choque séptico por malaria del 18% al 4% cuando se usó resucitación hídrica con albúmina comparada con cristaloides (25). Sin embargo, este mismo autor no pudo demostrar lo mismo con su estudio FEAST, realizado años más tarde, encontrando que pacientes con malaria que cursaban con anemia tenían cifras de mortalidad mayores con el uso de reanimación hídrica con cristaloides (31).

En el grupo de adultos, por su parte, el estudio SAFE comparó el uso de la reanimación hídrica con albúmina vs. cristaloides en choque séptico, encontrando una tendencia estadísticamente significativa a mejores desenlaces en aquellos a los que se les administraron coloides ($p < 0.01$) (76). Estos resultados no han sido consistentes en niños y no se han observado diferencias en términos de mejores desenlaces clínicos cuando se usan coloides frente a cristaloides. De hecho, el consenso recomienda el uso de estos

últimos, en vista de que son menos costosos y están disponibles en todos los centros, independientemente de su nivel de complejidad.

Con respecto al tiempo de administración de cristaloides en choque séptico, Sankar J y cols. evaluaron el impacto de proporcionar bolos de cristaloides de 20 ml/kg en cinco minutos frente a hacerlo en 15 a 20 minutos, encontrando que el primer grupo tenía más riesgo de presentar edema pulmonar y falla respiratoria, por lo que se necesitaba iniciar soporte ventilatorio (79). No obstante, posteriormente Rusell y cols. llegaron a la conclusión de que era mejor no modificar esta recomendación de administrarlos rápidamente porque, al realizar un análisis estadístico secundario, no se encontró que existieran diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos y, por lo tanto, concluyeron que no se debía modificar la recomendación del consenso con respecto al tiempo de administración de la reanimación hídrica (23).

4.4.1.2 Tipos de cristaloides

Debe reconocerse el hecho de que los cristaloides isotónicos han sido utilizados desde hace más de 100 años con fines terapéuticos. A finales del siglo XIX, el fisiólogo inglés Sydney Ringer diseñó una solución similar al plasma, que le permitió sostener la contracción miocárdica en un grupo de anfibios. Años más tarde, el pediatra estadounidense Alexis Hartmann modificó la solución de Ringer, adicionándole lactato, con el ánimo de mejorar su estabilidad y buscar un pH similar al del plasma, desarrollando lo que hoy se conoce como Lactato de Ringer, que ha sido considerada una solución isotónica, aunque no lo sea de manera estricta, dada su composición de sodio y relación con el cloro (6).

Algo similar ocurrió con la solución salina al 0.9% (SS 0.9%). El fisiólogo inglés Thomas Latta se considera uno de sus creadores, quien, alrededor del año 1832, describió cómo se podrían recuperar las pérdidas de líquidos que se producían en pacientes con cólera empleando esta solución. Posteriormente, en 1921, el químico y fisiólogo holandés Hartog Hamburger, luego de sus estudios comparando dos concentraciones de SS (i.e. 0.9% vs 0.6%), sugirió que a la primera se le denominara “normal” porque es más isotónica con el plasma de los mamíferos en comparación con la segunda, que lo es solamente con el plasma de los anfibios. Allí se originó el nombre de SS 0.9% normal, aunque hoy se reconozca que el término “normalidad” no sea ajustado a la realidad, en vista de que tiene un pH muy ácido (pH = 5.5) y unas concentraciones de sodio y de cloro muy superiores a las del plasma (78).

Hoy en día, se ha popularizado más el uso de SSN 0.9%, pese a que tiene problemas profundos relacionados con su composición y por ciertos efectos deletéreos en el ser humano, además de contar con una base científica débil para seguirla utilizando. De manera sencilla, una solución que tenga una relación cloro/sodio superior a 0.78 tiende a inducir acidosis metabólica hiperclorémica, con vasoconstricción de la arteria aferente renal y mayor tendencia a lesión renal aguda. El lactato de Ringer tiene una relación de 0.83 que, aunque es alta, es mucho menor que la relación cloro/sodio de 1.0 de la SSN 0.9% (77).

Debido a esto, entre otros motivos, en los últimos años se han clasificado los cristaloides en dos tipos, balanceados y no balanceados. Se consideran balanceados aquellos que tienen una composición similar a la del plasma, como es caso del lactato de Ringer y el Plasmalyte®. Estas soluciones son relativamente hipotónicas y, dada la inestabilidad del bicarbonato en recipientes que tienen plástico (como las bolsas de uso tradicional de líquidos endovenosos), contienen otros aniones como lactato, acetato, gluconato o malato. La administración en exceso de las soluciones balanceadas pueden favorecer la aparición de hiperlactatemia, alcalosis metabólica e hipertonicidad, así como cardiotoxicidad (con el uso en exceso de acetato) (3).

Por otra parte, los cristaloides no balanceados son aquellos que tienen una composición diferente a la del plasma; particularmente, cuentan con alto contenido de sodio y de cloro, que hacen que tengan una diferencia de iones fuertes más baja, lo que favorece la presencia de acidosis metabólica, falla renal e hipercloremia. En la actualidad, se considera a la SSN 0.9% como la solución no balanceada más utilizada. Recientemente, en un estudio de adultos, se demostró que el uso de soluciones no balanceadas se asociaba a peores desenlaces clínicos en términos de necesidad de terapias de reemplazo renal y acidosis metabólica, así como mayor mortalidad, cuando se comparaban con las soluciones balanceadas (80).

4.4.2 La reanimación hídrica y sus puntos de controversia

La estrategia de reanimación hídrica con cristaloides balanceados y no balanceados ha sido muy cuestionada en los últimos años en términos de pertinencia, tipo de solución a utilizar, dosis y tiempo en el que debería ser aplicada (3,81). Con respecto a su pertinencia, el cuestionamiento más importante surgió con los hallazgos de Maitland y cols. en el estudio FEAST. Este estudio enfocado en niños con sepsis de África del sur con acceso limitado a los servicios de salud, se demostró que el grupo que recibía reanimación hídrica con 20 a

40 ml/kg de SSN 0.9% o albúmina al 5%, tenía 44% más mortalidad que aquellos a quienes no se les administró bolos de cristaloides (31).

Estas conclusiones generaron mucha controversia en el ámbito científico porque se cuestionaba, con un ensayo clínico controlado con un buen diseño metodológico, una de las estrategias que han sido universalmente aceptadas para los pacientes con sepsis severa y choque séptico. El argumento más sólido de los grupos que han cuestionado está basado en que muchos de los pacientes que murieron con los bolos de cristaloides tenían un nivel de hemoglobina menor a 5 g/dL. Esta anemia llevaba a que los bolos hemodiluaran el volumen sanguíneo y ello comprometía aún más la entrega de oxígeno a los tejidos, que en últimas podría explicar la mayor mortalidad en este grupo de niños (82).

Adicionalmente, el estudio SMART, un ensayo clínico en 7942 adultos con sepsis, encontró mayor necesidad de terapia de remplazo renal, falla renal aguda y mortalidad con el uso de soluciones no balanceadas con respecto a las soluciones balanceadas (23). Sin embargo, Zampieri y cols publicaron el estudio BaSICS que comparó la SSN y el lactato de ringer para reanimación hídrica en una población de 10520 pacientes (media de 61 años) (24). Tras recibir un único bolo de 20 ml/kg, no se encontraron diferencias en la mortalidad a los 90 días, entre los dos grupos. La media de estancia hospitalaria fue de aproximadamente 14 días. Esta investigación ha sido cuestionada porque un solo bolo de cristaloides podría tener un efecto muy pequeño sobre desenlaces como la mortalidad, en pacientes que están en un estado tan críticos, que requieren múltiples intervenciones y se encuentran hospitalizados largos periodos de tiempo en terapia intensiva.

Con respecto a la dosis y el tiempo de administración de los cristaloides, la recomendación actual se basa en lo que sugiere el consenso de sepsis en sus tres actualizaciones desde el 2002. Se recomienda utilizar 20 ml/kg, porque es el 25% de la volemia de un paciente pediátrico (80 cc/kg). Luego de que se han tenido pérdidas exógenas por encima de esta cifra, o endógenas (por redistribución por vasodilatación), se observan signos clínicos de hipoperfusión tisular, entre otras manifestaciones clínicas; no obstante, no existen estudios controlados que hayan comparado diferentes dosis de cristaloides en choque séptico (25) y sus complicaciones.

Es sabido que los cristaloides permanecen por poco tiempo en el espacio intravascular y pasan rápidamente al espacio intersticial; dicho tiempo es variable y depende del hospedero, de la velocidad de administración y de su composición. Del mismo modo, los efectos sobre la función miocárdica también son transitorios. Si bien con el bolo de cristaloides se busca distender rápidamente el ventrículo izquierdo y, al mejorar el llenado

ventricular, optimizar el gasto cardíaco para recuperar la función miocárdica y la perfusión tisular, esta mejoría es pasajera. Recientemente, Longs y cols demostraron que luego de la aplicación de un bolo de cristaloides en pacientes con choque séptico, la recuperación del gasto cardíaco evaluado, a través de la medición de la fracción de eyección por ecocardiograma, es transitoria y dependiente de la dosis (83). El colocar 20 ml/kg de SSN 0.9% mejora la fracción de eyección en un 18%, si esta medida a los cinco minutos luego de su aplicación; pero a los 60 minutos, existe una disminución del 6% del gasto cardíaco con respecto a la cifra previa de la colocación del bolo. Si se colocan 10 ml/kg la mejoría en la fracción de eyección a los 5 minutos es tan solo del 9% y a los 60 minutos es de (-) 11%. En consecuencia, por el aumento de la mortalidad en los pacientes a los que se les ofrecen bolos de cristaloides de manera generalizada, sin considerar comorbilidades (anemia), sumado a la falta de consenso con respecto a la dosis, el tipo de solución utilizada y el efecto transitorio en la mejoría del gasto cardíaco, hoy en día se está cuestionando si el uso liberal y generalizado de la reanimación hídrica con cristaloides en niños con sepsis tenga los efectos benéficos que se buscan con la misma intensidad y efectividad en todos los pacientes tratados (84). Muchos investigadores consideramos que, aunque son necesarios los cristaloides en la reanimación hídrica, debe individualizarse su uso y, de este modo, determinar qué pacientes pueden beneficiarse con su implementación, cuál es la mejor dosis para el estado hemodinámico y comorbilidades del paciente, y cuál es la mejor composición posible para que logren su objetivo que, en definitiva, es optimizar la perfusión tisular y facilitar entrega de oxígeno a los tejidos (85,86).

4.4.2.1 La reanimación hídrica y su efecto en el endotelio

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriormente expuestas, se cree que los cristaloides son necesarios para estabilizar la volemia y recuperar la presión de perfusión tisular. Sin embargo, también se considera que en vista de que los estudios clínicos basados en el análisis de la macrocirculación y desenlaces clínicos no han sido contundentes con respecto a su real beneficio y efectividad, es necesario orientar estas investigaciones a definir cuándo colocar cristaloides y en cuánta cantidad en el contexto de los niños con sepsis; lo anterior, con base en estudios de biomarcadores y medición de la microcirculación *in vivo* para orientar las aproximaciones de manera objetiva (7).

En este sentido, como se ha explicado previamente, la disfunción endotelial es una de las alteraciones más tempranas que ocurre en los pacientes con sepsis. Cuando ha interactuado el patrón molecular asociado a patógeno (PAMPS) con el receptor de la célula

de defensa de la inmunidad innata ocurre una activación de factores de transcripción que llevan a la expresión de citoquinas proinflamatorias como el FNTalfa y la IL-1. Estas dos estimulan la expresión de quimocinas, selectinas e integrinas que permiten que los leucocitos migren fuera del espacio intravascular, como se mencionó previamente. Ahora bien, para que las quimocinas ejerzan su efecto, estas deben interactuar con el heparán sulfato de los proteoglicanos del glicocáliz, con lo que se tiene que esta capa que recubre el endotelio facilitaría y magnificaría la respuesta inmune, participando activamente en todo el proceso inflamatorio que afecta la microcirculación en sepsis (12, 18).

Adicionalmente, se ha demostrado que el glicocalix se encuentra profundamente lesionado en pacientes con sepsis, con lo que no se puede mantener la fluidez del movimiento de los componentes sanguíneos a nivel intravascular. Al lesionarse los GAG del glicocáliz, se pierde la carga negativa de estos, que en condiciones normales repelen a la albúmina, por lo que esta proteína sale del espacio intravascular para llegar al intersticial; el resultado es que se pierde la presión oncótica intravascular y aumenta la presión oncótica intersticial. Si a este fenómeno se le suma la intervención terapéutica de varios bolos de cristaloides en un espacio intravascular lesionado, sin glicocáliz y con baja presión oncótica, ocurrirá una rápida salida de estos cristaloides al espacio intersticial, con poco efecto sobre la macrocirculación y la volemia. Lo que ocurrirá, por el contrario, es aumento del edema intersticial y la fuga capilar, que explicaría lo observado en pacientes sépticos: es desenlaces clínicos con el uso de reanimación hídrica, particularmente mayor frecuencia de edema pulmonar y falla respiratoria (13).

Otro factor importante a tener en cuenta es el papel que tiene el glicocáliz en la mecanotransducción endotelial (12). Esta capa detecta los cambios de presión del espacio intravascular para estimular la producción de óxido nítrico por parte de la célula endotelial. En el paciente con sepsis, con frecuencia, existen alteraciones en la resistencia vascular sistémica por liberación excesiva (vasodilatación severa o vasoplejia) de óxido nítrico por parte de la célula endotelial y se necesitarían grandes volúmenes de cristaloides para “llenar” este espacio intravascular por el fenómeno de vasodilatación en curso y así mejorar la presión de perfusión tisular. Por lo tanto, poder establecer con objetividad el estado de la microcirculación con mediciones *in vivo* del endotelio o el glicocáliz permitirían objetivar las intervenciones y racionalizar los bolos de cristaloides, así como utilizar más precozmente los medicamentos vasoactivos cuando sean necesarios.

5. Hipótesis

5.1 Hipótesis de trabajo

En pacientes con sepsis, el daño del glicocálix endotelial, se asocia con el tipo de reanimación hídrica utilizada lo que podría llevar a alteración del microambiente endotelial que lleva a lesión de esta estructura y a desenlaces clínicos inadecuados.

5.2 Hipótesis alternativa (H_1)

En pacientes con sepsis, el daño del glicocálix endotelial, se asocia con un curso clínico adverso y con el tipo de reanimación hídrica utilizada.

5.3 Hipótesis nula (H_0)

El daño del glicocálix endotelial, no se asocia con el curso clínico en pacientes con sepsis ni con el tipo de reanimación hídrica utilizada.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Estimar las alteraciones en la integridad del endotelio y su glicocálix, en niños con sepsis hospitalizados en cuidados intensivos, a quienes se les administra reanimación hídrica con cristaloides y su asociación con desenlaces clínicos de interés.

6.2 Objetivos específicos

1. Describir y analizar las características demográficas, clínicas y paraclínicas en niños con sepsis grave/choque séptico, que se encuentran hospitalizados en la unidad de cuidado intensivo pediátrico de la Fundación Cardioinfantil-IC y a los que se les administra reanimación hídrica con cristaloides balanceados y no balanceados.
2. Estimar el grado de alteración del glicocálix endotelial, a través de la medición directa no invasiva de la microcirculación sublingual, empleando video-microscopía, así como la medición de los niveles plasmáticos de biomarcadores de daño del glicocálix (sindecano-1, endocan) en la población de estudio, antes y después de recibir reanimación hídrica con cristaloides.
3. Evaluar la afectación del componente celular del endotelio vascular, a través de la medición de biomarcadores plasmáticos (angiopoietina 2, anexina a5) en la población de estudio, antes y después de recibir reanimación hídrica con diferentes tipos de cristaloides y su asociación con la alteración de otros biomarcadores y daño del glicocálix.
4. Determinar la asociación entre el cambio de la integridad del glicocálix, según el tipo de reanimación hídrica instaurada, y los desenlaces clínicos de interés (i.e. estado ácido base, función renal, lactato y alteraciones hidroelectrolíticas) en niños con sepsis.
5. Explorar un modelo multivariado, controlando factores de confusión, que permita establecer la relación entre el tipo de cristaloides utilizado y el daño del glicocálix endotelial.

7. Metodología

7.1 Enfoque metodológico

Se trata de un estudio empírico analítico y cuantitativo porque se midieron los fenómenos asociados a la reanimación hídrica con cristaloides sobre el glicocálix endotelial, utilizando para ello métodos estadísticos con el fin de probar hipótesis y un método deductivo y secuencial, con el que se buscó ser preciso y generalizar nuestros resultados.

7.2 Tipo de estudio

Observacional, analítico de cohortes prospectivo.

7.3 Población de referencia

Está constituida por pacientes pediátricos con sepsis, en un rango de edad desde 1 mes a 18 años, que se encontraban hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos de la Fundación Cardioinfantil- Instituto de Cardiología, entre enero del 2021 y julio del 2021, y que a criterio del médico tratante requerían un bolo de cristaloides (ver Figura 5).

7.4 Criterios de inclusión

- Niños de 1 mes a 18 años, sin distinción de sexo biológico o raza.
- Pacientes pediátricos con diagnóstico de sepsis y choque séptico, hospitalizados en la UCI Pediátrica de la FCI, que por su enfermedad de base se encontraban en soporte con ventilación mecánica bajo efectos de sedo-analgésia o bloqueo neuromuscular. En caso de no estar con ventilación mecánica se incluirán los pacientes que colaboren en la evaluación de la microcirculación sublingual.
- Que por criterio médico requieran terapia de reanimación hídrica con cristaloides.
- Cuyos representantes legales acepten su inclusión en el estudio, expresado a través de la firma del consentimiento informado de la investigación.

7.5 Criterios de exclusión

- Pacientes con trauma múltiple, craneoencefálico, hiperkalemia o historia de diabetes.
- Niños a quienes no se le puedan tomar muestras para análisis de laboratorio, debido a pérdidas sanguíneas externas.
- Niños en postoperatorio de cirugía cardiovascular por cardiopatías congénitas.
- Pacientes que han recibido bolo de cristaloides en las últimas 24 horas o durante el periodo del estudio reciben más de un tipo de cristaloides para reanimación hídrica.

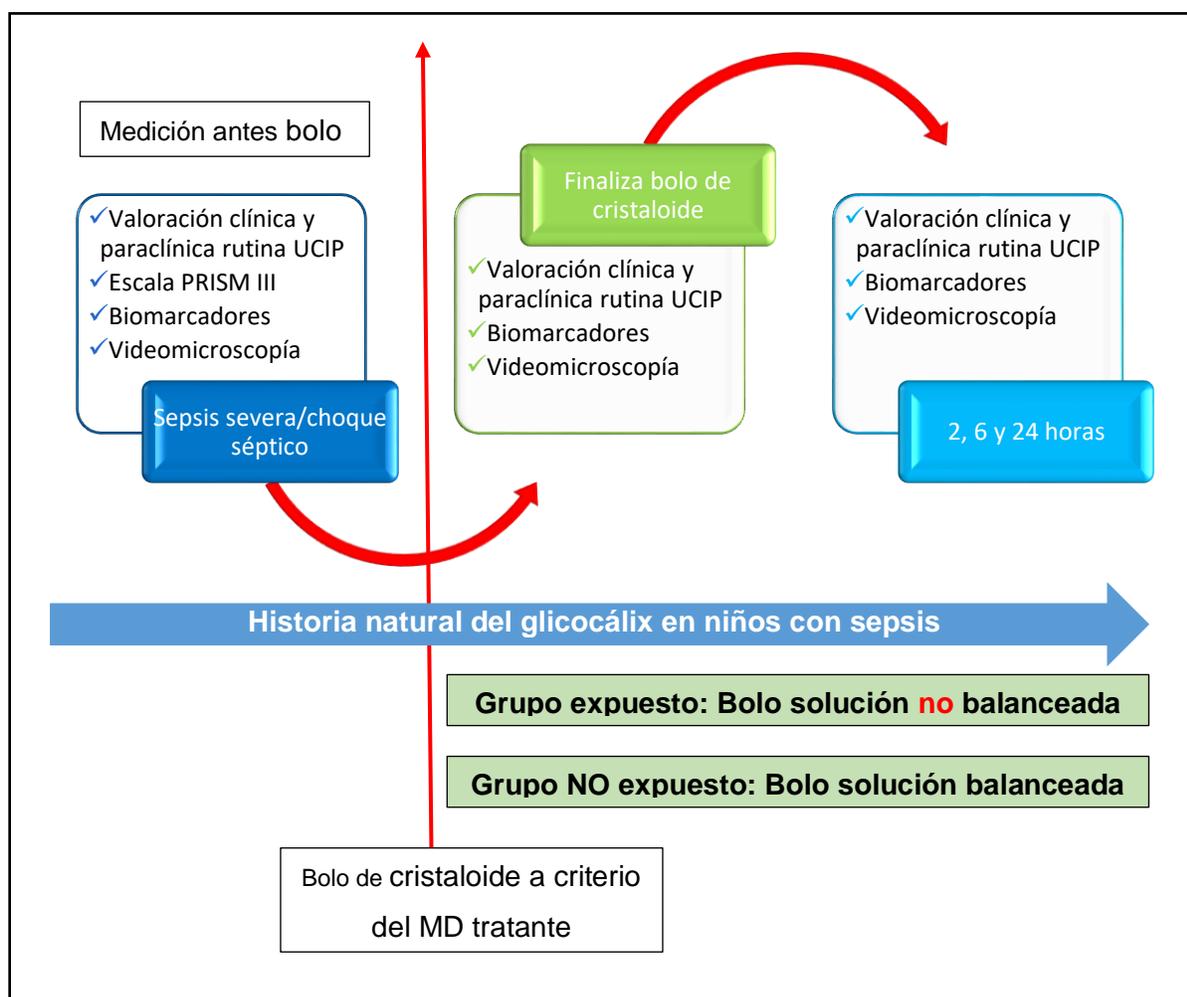


Figura 5. Metodología y proceso de la investigación. Se muestran las actividades a realizar antes y después del bolo de cristaloides así como el grupo expuesto y no expuesto.

7.6 Diseño muestral

No se realizó estrategia de muestreo. Se trabajó con el Censo, es decir, todos los pacientes pediátricos de 1 mes a 18 años que se encuentren hospitalizados entre enero del 2021 y julio del 2021 en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos de la Fundación Cardioinfantil del Instituto de Cardiología, con diagnóstico de sepsis y que a criterio del médico tratante requiera un bolo de cristaloides dada su condición clínica.

7.7 Tamaño de la muestra

Se tomaron todos los pacientes (censo) que ingresaron a la unidad de cuidado intensivo pediátrico de la Fundación Cardioinfantil con diagnóstico de sepsis o choque séptico que cumplieran con los criterios de inclusión y que no cumplieran los criterios de exclusión. La unidad de análisis fue el tipo de bolos de cristaloides que reciba cada paciente, tanto balanceado (SSN0.9%) como no balanceado (lactato ringer), dentro de su reanimación hídrica. El parámetro a detectar fue el riesgo de daño del glicocálix (RR) con el uso de las diferentes soluciones, medido a través de los biomarcadores imagenológicos (PBR) o plasmáticos (sindecano-1, endocan) en el grupo expuesto (bolos de SSN 0.9%) o en el grupo no expuesto (lactato de ringer). Para una confianza del 95% y una potencia del 80%, considerando un error tipo I del 5% y un error tipo II del 20%, asumiendo un daño del glicocálix en el grupo expuesto de un 25% de acuerdo al trabajo de Steppan y cols (13) con mayor daño del glicocálix endotelial con respecto al grupo no expuesto, buscando detectar un RR de 2.8 (relación expuestos vs no expuestos), se consideró se requerían un total de 92 bolos de cristaloides, de los cuales 46 son del grupo expuesto (SSN 0.9%) y 46 del grupo no expuesto (lactato de ringer). El tamaño de la muestra se realizó con el software Epidat versión 4.2 como se muestra a continuación.

Datos: Nivel de confianza del 95%

Riesgo en expuestos	40,000 %
Riesgo en No expuestos	14,286 %
Riesgo Relativo a detectar	2,800
Razón no expuestos / expuestos	1,00

Resultados:

Potencia (%)	Tamaño de la muestra *		
	Expuestos	No expuestos	Total
80,0	46	46	92

*Tamaños de muestra para aplicar el test X^2 sin corrección por continuidad.

Dado que el seguimiento fue corto (24 horas) y los datos fueron recogidos de manera prospectiva por el investigador y considerando el alto valor de los biomarcadores plasmáticos a realizar, no se calculó muestra ampliada asumiendo que no se tendrán pérdidas ni datos incompletos.

Los tipos de variables que se incluyeron en el este estudio se representan en la figura 6.

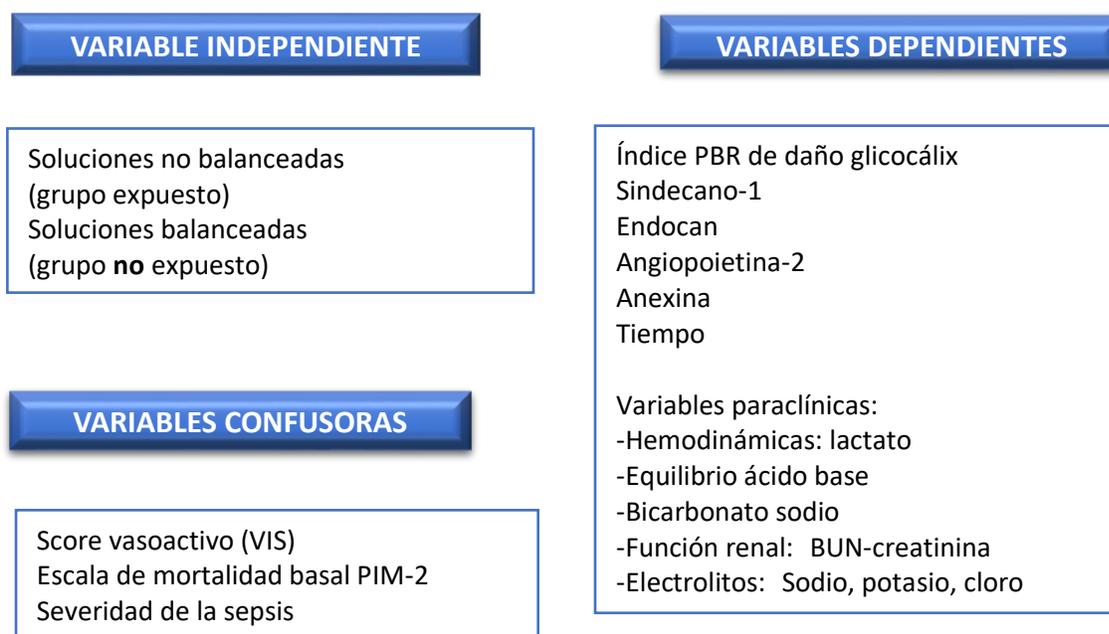


Figura 6. Diagrama de variables.

7.8 Variables

7.8.1 Tabla de variables

Tabla 4. Se encuentra una descripción detallada de las variables que fueron incluidas en el estudio.

Variable	Definición	Naturaleza y nivel de medición	Unidad de medida	Objetivos específicos
Variables sociodemográficas, severidad y nutricional				
Edad	Tiempo desde el nacimiento hasta la inclusión del estudio.	Cuantitativa razón	Meses-años	1
Peso	Peso en kilogramos	Cuantitativa razón	kg	1
Talla	Talla en centímetros	Cuantitativa razón	cm	1
Procedencia	Lugar de residencia habitual.	Cualitativa nominal politómica	1. Bogotá 2. Otros municipios de undinamarca 3. Otros departamentos	1
Régimen de afiliación a sistema de salud.	Característica de la población en afiliación a EPS,	Cualitativa nominal politómica	1. Contributivo 2. Subsidiado 3. Prepagada	1
Escala de mortalidad PIM-2	Escala validada en niños de evaluación de severidad al ingreso.	Cuantitativa de intervalo		1
Escala PELOD-2	Escala validada en niños de falla orgánica múltiple	Cuantitativa de intervalo		1
Variables de biomarcadores de daño endotelial				
Sindecano 1	Producto de degradación del glicocálix endotelial.	Cuantitativa razón	ng/mL	2
Endocan	Producto de degradación del glicocálix	Cuantitativa razón	ng/mL	2
Angiopietina-2	Marcador de daño en la integridad endotelial.	Cuantitativa razón	ng/mL	3

Anexina A5	Marcador de apoptosis celular endotelial.	Cuantitativa razón	ng/mL	3
Medición in vivo de la microcirculación: Índice PBR	Índice de perfusión límite del glicocálix. Distancia medida en micras desde glóbulo rojo hasta pared vaso.	Cuantitativa razón	µm	2
Variables de severidad de enfermedad				
Sepsis grave	Síndrome de respuesta inflamatoria asociada a infección con disfunción de órgano	Cualitativa ordinal	1. Sepsis 2. Sepsis severa 3. Choque séptico	General
Choque séptico	Sepsis grave con disfunción cardiovascular que requiere vasoactivo.	Cualitativa nominal dicotómica	1. Ausente 2. Presente	General
Falla orgánica múltiple.	Disfunción de 2 o más órganos asociados a sepsis.	Cualitativa nominal dicotómica	1. Ausente 2. Presente	1
Variables clínicas y paraclínicas				
Presión arterial sistólica baja.	Presión arterial sistólica por debajo del percentil cinco, definida con fórmula de American Heart 1m-1a: <70 1a-10a: 70 + 2 x edad >10a: 90	Cuantitativa razón	mm/Hg	1
Llenado capilar	Tiempo transcurrido desde la presión con una lámina de microobjeto del pulpejo del dedo de la mano derecha a la altura del corazón hasta que mejore la perfusión, luego de presionarlo por 10 seg. Se medirá	Cuantitativa razón	Segundos	1

	con un cronómetro. Se medirá antes, luego del bolo, a las 6 y 24 horas.			
Soporte vasoactivo evaluado con el score vasoactivo (VIS).	Necesidad de medicamentos vasopresores para sostener presión arterial mayor p5.	Cuantitativa razón	VIS= dosis dopamina ($\mu\text{g}/\text{k}/\text{min}$) + dosis dobutamina ($\mu\text{g}/\text{k}/\text{min}$) + 100 x adrenalina ($\mu\text{g}/\text{k}/\text{min}$) + 10 x dosis Milrinone ($\mu\text{g}/\text{k}/\text{min}$) + 10.000 x dosis vasopresina (U/kg/min) + 100 x dosis noradrenalina ($\mu\text{g}/\text{k}/\text{min}$).	1
Tiempo de aplicación de cristaloiide.	Periodo de tiempo de aplicación del cristaloiide.	Cuantitativa razón	Minutos	General-4
Bolo de cristaloiide.	Aplicación de cristaloiide en menos de 30 minutos a dosis de 20 cc/kg.	Cuantitativa razón discreta		General-4
Tipo de solución utilizada.	Solución que se utiliza para reanimación hídrica.	Cualitativa nominal politómica	0. Solución Salina 0.9% 1. Lactato de Ringer	General -4
Foco infeccioso	Lugar de origen de la infección.	Cualitativa nominal politómica	1. Respiratorio 2. Sangre 3. Digestivo 4. Urinario 5. SNC	1,4
Creatinina	Alteración función glomerular según la edad con la fórmula de Schwartz: creatina máx= talla x cte/ 80 Ctte: 0.45 <1 a Ctte 0.55 > 1 a	Cuantitativa razón	mg/dL	4
Nitrógeno ureico	Alteración de la función glomerular conocida como BUN	Cuantitativa razón	mg/dL	4
Sodio sérico	Cantidad de sodio medido en gases sanguíneos	Cuantitativa razón	mEq/L	4
Potasio sérico	Cantidad de potasio en sangre medido en gases sanguíneos.	Cuantitativa razón	mEq/L	4

Cloro sérico	Cantidad de cloro medido en gases sanguíneos.	Cuantitativa razón	mEq/L	4
Bicarbonato sérico	Cantidad de bicarbonato medido en gases sanguíneos.	Cuantitativa razón	mmol/L	4
Lactato sérico	Presencia de lactato medida por gases sanguíneos	Cuantitativa razón	mmol/L	4
Ferritina	Niveles séricos de esta proteína hepática	Cuantitativa razón	mg/dL	4
Proteína C reactiva	Proteína de fase aguda que indica activación de IL-1 y de IL-6	Cuantitativa razón	mg/dL	4

Fuente: elaboración propia

7.9 Técnicas de recolección de información

7.9.1 Instrumento de recolección de información

Los datos se recolectaron en un formato establecido para tal fin, en el que se registraron los datos demográficos del paciente, la hora exacta de formulación del cristaloiide, la hora de inicio, el tipo, la cantidad y vía de administración de las soluciones balanceadas y no balanceadas tomados desde la fuente primaria de información. De la misma manera, se consignó el valor medido del PBR (región límite perfundida) medido con el videomicroscopía, antes de inicio de bolo, a las 2, 6 y 24 horas de haberse aplicado. Se registraron los valores de medición de rutina basal de desenlace clínico de interés, que incluyeron la medición de lactato, gases, bicarbonato, electrolitos, PCR, BUN y creatinina, antes e inmediatamente después de la terminación del bolo de cristaloiide. Igualmente se tomaron mediciones de estas variables a las 6 y 24 horas.

Con respecto a la medición de biomarcadores de integridad del glicocálix (i.e. sindecano-1, endocan) y de lesión endotelial (angiopoietina-2, anexina A5), esta se realizó antes del bolo, inmediatamente finalice, a las 6 y 24 horas. Las muestras se realizaron en plasma por lo que una vez se tomen serán procesadas en el laboratorio central de la institución donde fueron procesadas. Los datos allí encontrados se incluyen en la tabla del Anexo 2.

7.9.2 Proceso de obtención de la información

Cuando un paciente con sepsis severa y choque séptico ingresó a la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos (UCIP) de la Fundación Cardio-infantil IC, se realizó el diligenciamiento de la historia clínica de ingreso, acorde con los protocolos establecidos por la institución, así como se obtuvo el consentimiento informado institucional para la autorización de procedimientos de la unidad.

Posteriormente, uno de los coinvestigadores o intensivistas de turno explicó el protocolo de investigación, incluidos propósito, alcances y condiciones de participación, a los representantes legales del niño. Esto, de manera clara y suficiente. Luego, les hizo entrega el consentimiento informado para su revisión. Los representantes legales del niño autorizaron la participación de este en la investigación, a través de la firma de dicho consentimiento, la cual se realizó en la presencia de dos testigos. Una copia del documento les fué entregada, mientras que la otra esta depositada en los archivos de la investigación. Si el paciente requería un bolo de cristaloides durante su estancia en la UCIP, por razones estrictamente médicas y de acuerdo con el criterio del médico tratante, el paciente no fue incluido en la investigación, acorde a criterios preestablecidos. A partir de ese momento, mientras la enfermera preparó el bolo de cristaloides a administrar, se registraron las constantes vitales y variables clínicas de interés, lo mismo que se tomaron muestras sanguíneas de catéter venoso central o línea arterial para realizar los estudios de laboratorio solicitados.

Tales muestras sanguíneas se emplearon para realizar los exámenes paraclínicos de rutina, así como para analizar los biomarcadores sanguíneos de integridad del endotelio y su glicocálix. Entre ellos, los glicosaminoglicanos (GAGs) de la superficie endotelial (e.g. sindecano-1, endocan), angiopoietina-2 y anexina A5. Estos cuatro biomarcadores se midieron con técnicas de ELISA de plasma del paciente usando citrato como anticoagulante y se centrifugaron las muestras a 1000 rpm por 30 minutos. Se almacenaron en alícuotas a (-) 20 °C. Se procesó con 100 u de plasma y se realizó una curva con el estándar recomendado por el fabricante del kit con el fin de establecer los valores de concentración y absorbancia.

De manera simultánea, el médico de turno estableció el estado de la microvasculatura. Esto, empleando un equipo portátil para video-microscopía, el cual se posicionó a nivel sublingual y medirá indicadores de perfusión y estado del glicocálix como el índice límite de perfusión (PBR) y otros indicadores de perfusión tisular.

Toma de las imágenes por el videomicroscopio:

1. Como se describió en el marco teórico, en el equipo se graban fotogramas de alta calidad, a partir de los vídeos, que luego son registrados con el software (según el movimiento de los tejidos, la intensidad de la iluminación y el nivel de enfoque de la microvasculatura sublingual). La grabación se detiene, de manera automática, cuando se han tomado más de 3000 segmentos vasculares, lo cual toma entre 1-2 minutos.
2. Luego de que se han tomado las imágenes, el software calcula el PBR (región límite profundida) que es el indicador que corresponde al tamaño del glicocálix endotelial. A mayor compromiso del glicocálix, mayor es el nivel de este indicador. El análisis realizado por el software empieza de manera automática, lo que significa que no es influenciado por el examinador ni por la calidad de las imágenes que han sido seleccionadas previamente. Por cada uno de los segmentos vasculares, el software obtiene 840 perfiles de intensidad radial que determinan la presencia de los glóbulos rojos y calcula el ancho medio de los eritrocitos (RBCW), el ancho exterior y el ancho de las columnas de glóbulos rojos. Además, el sistema calcula el PBR.
3. Los médicos participantes del estudio fueron entrenados en el uso correcto del videomicroscopio por la casa productora en reunión virtual desde Alemania el día 15 de noviembre del 2020. Se verificó que las tomas fueran confiables. Cuando está mal posicionado el videomicroscopio este no realiza tomas ni registro. Esto garantiza que la evaluación de la microcirculación es confiable con imágenes adecuadas.

Las mediciones automáticas no son susceptibles de ser modificadas por el médico intensivista que tomó las mediciones, ya que el software no es manipulable, y en tan sólo 1-2 minutos se toman las imágenes necesarias para dar la información para el estudio. Además, este videomicroscopio ha sido evaluado y validado inter-observador e intra-observador con resultados consistentes en estudios clínicos, como se mencionó en el marco teórico.

Posteriormente, se administró el bolo de cristaloides en el tiempo ordenado. A las 2 horas de finalizado, se registró las constantes vitales y variables clínicas de interés, así como se volvió a establecer el estado de la microvasculatura por video-microscopía. Además, se tomó las muestras sanguíneas correspondientes al momento post-bolo, procedimiento que se repitió a las 6 y 24 horas. Estas muestras sanguíneas se utilizaron para realizar los

exámenes paraclínicos de rutina, así como la medición de los biomarcadores de integridad endotelial anteriormente descritos.

7.9.3 Prueba piloto

Esta se realizó con el objeto de poner a prueba el diseño metodológico y para identificar barreras y problemas con el ingreso de pacientes, con el registro de los mismos y los instrumentos diseñados para tal fin. Se incluyeron los primeros 10 pacientes que del estudio que requirieron a criterio del médico tratante bolos de cristaloides y que cumplían con los criterios de inclusión y de quienes se tuvo firmado el consentimiento informado. Adicionalmente, se monitorizó el procedimiento de medición de glicocálix *in vivo*, los biomarcadores y los cuatro momentos definidos de evaluación y, al final, se determinó las oportunidades de mejora en términos de los instrumentos utilizados y de la técnica de uso del videomicroscopio.

7.10 Control de errores y sesgos

Cabe resaltar que en esta investigación se buscó controlar el sesgo de selección con diferentes estrategias. En primer lugar, se ha definido claramente la población de estudio de referencia, que corresponde a pacientes que tienen sepsis y choque séptico y que, de acuerdo con el criterio médico, necesitan un bolo de cristaloides porque tienen compromiso de la perfusión tisular o están en hipotensión. Estos pacientes hospitalizados se encuentran en cuidados intensivos con definición clara de sepsis (para evitar el sesgo de Berkson), según el Consenso Mundial de Goldstein, que es el aplicable actualmente en cuidados intensivos pediátricos de la Fundación Cardioinfantil. Esta definición estuvo resumida en una cartelera dentro de la UCIP, claramente visible y entendible por el personal. Al tratarse de una patología específica, sepsis y choque séptico, se incluyeron todos los pacientes que requerían reanimación hídrica durante su estancia en la UCIP y que cumplían con los criterios de inclusión y no con los de exclusión. Asimismo, se considera que no se tuvo sesgo por sobrerrepresentatividad (falacia de Neyman), porque los casos no tienen una estancia de corta duración. Además, se realizó toma de muestras inmediatamente antes e inmediatamente después de colocar el bolo y fueron incluidos solamente aquellos pacientes que en las últimas 24 horas no habían recibido bolos de cristaloides.

De la misma manera, se buscó controlar el sesgo de selección con respecto a lo relacionado con la integridad de la muestra, así como las pérdidas (desgaste de la muestra); se

esperaba que estas fueran pocas porque el seguimiento se hace en corto tiempo, de hecho, en todos los casos no superó las 24 horas. Se cuidó la pérdida de datos, garantizando que la herramienta de recolección se mantuvo dentro de la custodia de la papelería relacionada con la historia clínica; dicha situación hace parte del control rutinario realizado en la unidad de cuidados intensivos, pues es una exigencia incluida en las condiciones de habilitación y criterios de calidad del servicio. Dado esto, el procedimiento de documentación fue realizado por el departamento de enfermería y se encontraba bajo los procesos de vigilancia definidos en el sistema de calidad de la institución. Con estas estrategias de control de sesgo de selección se buscó evitar una baja precisión, no afectar la potencia, ni encontrar asociaciones espurias (validez interna) y, por lo tanto, tener adecuada validez externa. Igualmente, se controló el sesgo de información relacionado con el observador, de varias maneras. En primer lugar, la información se diligenció en el formato de recolección diseñado para tal fin por la enfermera jefe del paciente, que en la unidad de cuidado intensivo pediátrico son subespecialistas en cuidado intensivo, quienes realizan un control riguroso de la calidad de la información, realizado de manera rutinaria y ajustado a las guías de manejo de buenas prácticas clínicas exigidas por la Joint Commission International. Adicionalmente, se hizo un entrenamiento en todos los turnos de enfermería acerca del diligenciamiento correcto del formato, en términos de calidad de la información consignada y para que se llene de manera completa, ordenada y secuencial. No obstante, la información que se diligenció en el formato también está consignada en la historia clínica electrónica, que sirvió de respaldo a los datos allí descritos. Las unidades que se usaron en las variables cuantitativas fueron definidas previamente en la tabla de variables; con las cualitativas se usaron categorías excluyentes y exhaustivas.

Es oportuno destacar que las medidas de variables clínicas, así como la forma de tomar la muestra de sangre, el volumen a utilizar, el tiempo de procesamiento de esta y las unidades de reporte de los resultados fueron estandarizados, a través de procesos definidos, en la Fundación Cardioinfantil y se realizó de la misma manera en todos los pacientes. Las muestras sanguíneas estuvieron en el laboratorio en menos de 15 minutos luego de ser tomadas, pues fueron transportadas por tubos neumáticos (tubos especializados automáticos de transporte de muestras sanguíneas en el hospital) que las llevarán directamente al laboratorio y fueron procesadas de manera estándar en los primeros 60 minutos de ingreso, lo que es una práctica habitual y exigida en la institución. La única excepción de este procedimiento fue el procesamiento de los gases arteriales y lactato que informa la máquina de gases (*Marca Cobas b 221, laboratorios Roche, Alemania*), los

cuales fueron procesados inmediatamente después de obtener la muestra, porque este equipo se encuentra disponible dentro de la unidad de cuidados intensivos y constituye una actividad de rutina realizarlo dentro de la UCI pediátrica tan pronto sean tomados, para evitar errores en su información.

Por otra parte, no se considera que existió riesgo de sesgo de memoria al ser un estudio prospectivo y con seguimiento de tan solo 24 horas. Con respecto al efecto Hawthorne, este se controló al ser un estudio observacional en el que los sujetos no conocerán la hipótesis de estudio por estar intubados y bajo efectos de sedo-relajación.

Con relación al procesamiento de los datos, la información fue consignada en el instrumento de recolección y transcrita a un instrumento de recolección en Excel, que constituyó la base de datos del estudio, y se usaron medidas estándar y numéricas de codificación; la base de datos fue diligenciado por uno de los investigadores transcribiendo de manera estricta toda la información recogida en las hojas de recolección de los datos del estudio. Con estas estrategias de control de sesgo de información se buscó no alterar la precisión de los datos, no encontrar asociaciones espurias y, por lo tanto, tener adecuada validez interna y externa. Frente al control de la confusión se debe saber que, desde la fase de diseño de la investigación, se buscó controlar con una adecuada especificación de los criterios de inclusión y exclusión por el tipo de diseño observacional de la investigación. En este sentido, las variables que fueron consideradas factores de confusión son todas aquellas descritas en la literatura que tienen asociación con las variables dependientes. En la fase de análisis se realizó análisis multivariado, como se describe en el plan de análisis de resultados. No se consideró que fuera necesario realizar estratificación para que no se vea afectada la potencia del estudio. Con estas estrategias se busca controlar la confusión para no tener asociaciones espurias y/o alteración de las asociaciones existentes que afecten la validez interna y por ende la validez externa.

7.11 Técnicas de procesamiento y análisis de los datos

En primer lugar, se realizó un análisis univariado en donde las variables cualitativas se presentan en términos de sus frecuencias absolutas y relativas. Por otra parte, las cuantitativas son presentadas de acuerdo con su distribución (normal o no normal) en medidas de tendencia central y dispersión. Esta información, se agrupo en una tabla 6 en la que se consignaron los datos demográficos, las variables de exposición tales como líquidos balanceados y no balanceados, así como las de desenlace, por ejemplo, los niveles de biomarcadores, y se describen las variables de confusión que se muestran en el ítem

5.6 de la metodología, como la severidad de la condición, que se medirá con la escala PIM-2, así como score vasoactivo.

Posteriormente, se realizó un análisis bivariado donde las variables solución balanceada o no balanceada se cruzaron de acuerdo con los desenlaces, considerando como el principal la alteración en la medición del glicocálix *in vivo*, empleando el videomicroscopio o la determinación de biomarcadores plasmáticos (sindecano -1, endocan, angiopoietina-2, anexina). Estas variables de desenlace son cuantitativas y se utilizaron pruebas paramétricas o no paramétricas, según su distribución. En el primer caso se realizó análisis de T-Student para varianzas iguales o no de muestras independientes. No se utilizó un ANOVA de una vía en vista de que se comparan tan solo dos grupos y no se cumple uno de los supuestos de esta prueba que esta diseñada para 3 o más grupos. Si hay una distribución no normal, como corresponde al análisis de medias de muestras independientes comparando las soluciones balanceadas y no balanceadas frente a las variables dependientes descritas, se realizó la prueba de U de Mann-Whitney para comparación de los dos grupos. Sin embargo, para comparar las mediciones en los diferentes tiempos, en vista de ser más de tres mediciones (T=0 antes bolo, T1=2 horas después, T2 a las 6h del T0, T3 a las 24h del T0) se realizó un ANOVA de muestras pareadas porque la variable desenlace es cuantitativa con distribución normal de los residuos.

Se usó la prueba de Wilcoxon para evaluar la diferencia entre cada biomarcador (sindecano, endocan, angiopoietina-2 y anexina) cuando la distribución fue no normal de grupos dependientes y se comparaba sólo dos grupos (balanceadas vs no balanceadas). Para el estudio de desenlaces clínicos secundarios (comparando solución balanceada o no balanceada) de interés, tales como alteraciones en electrolitos, función renal, acidosis metabólica, así como de indicadores de respuesta inflamatoria como proteína C reactiva y procalcitonina, se realizó la prueba de T-Student porque tuvieron distribución normal y para la ferritina y el lactato se realizó la U de Mann-Whitney porque tuvieron distribución no normal.

En esa misma línea, se realizó una correlación de Spearman's o Pearson dado la distribución no normal o normal de las variables en aras de establecer el grado de asociación entre las variables cuantitativas de medición de daño del endotelio y glicocálix, las pruebas *in vivo* y los biomarcadores con otros desenlaces y mediciones de rutina en UCI, como el lactato sérico, la ferritina y la proteína C reactiva.

En ese orden de ideas, se hizo un análisis multivariado entre el tipo de solución utilizada y las alteraciones del endotelio y su glicocálix, buscando controlar las variables de confusión, principalmente la severidad de la enfermedad medida por la escala PIM-2, así como la severidad de la sepsis y el soporte vasoactivo, medido por el score vasoactivo descrito en la Tabla 5. También se buscó controlar como factor de confusión la edad dado la respuesta inmunológica diferente de cada grupo y la etiología de la sepsis. Se realizó este análisis con regresión logística binaria teniendo en cuenta que la variable desenlace será dicotómica (PBR mayor o menor de 2.0), tal y como se resume en la Tabla 6.

De igual modo, se elaboró un modelo predictivo con el análisis multivariado de daño del glicocálix con el uso de soluciones balanceadas y no balanceadas, utilizando variables que fueron significativas en el bivariado. En el modelo fueron incluidas también variables con plausibilidad biológica. Para todas las pruebas estadísticas se tomó un nivel de confianza del 95% y se considerará una p significativa < 0.05. Se utilizará el software de SPSS en su versión 25.0 para la realización de los análisis estadísticos y Epidat versión 1.4 para el cálculo del tamaño de la muestra.

Tabla 5. Tabla de variables y su análisis realizado.

Objetivo	Variable independiente	Variable dependiente	Variable confusora o covariable	Plan de análisis	Forma de presentación
1.Describir características demográficas.	Tipo de cristaloides utilizado: 1. Expuesto: SSN 2. No expuesto Lactato de Ringer.	Edad, peso, talla		Frecuencias absolutas y relativas con medidas de tendencia central, dispersión. Prueba de Chi2	Tabla
1.Describir variables demográficas	Tipo de cristaloides utilizado: 1. Expuesto: SSN 2. No expuesto	Procedencia, régimen seguridad social		Frecuencias absolutas y relativas con medidas de tendencia central y de dispersión	Tabla

	Lactato de Ringer.				
1.Riesgo de mortalidad basal	Tipo de cristaloides utilizado: 1. Expuesto: SSN 2. No expuesto Lactato de Ringer.	Escala PIM-2		Frecuencias absolutas y relativas con medidas de tendencia central y de dispersión. Chi2 entre grupos.	Tabla
2.Alteración en biomarcadores del glicocálix: sindecano -1, endocan	Tipo de cristaloides utilizado: 1. Expuesto: SSN 2. No expuesto Lactato de Ringer.	Alteración en niveles de biomarcadores.	Score vasoactivo, severidad de la sepsis, escala de mortalidad PIM-2	T Student para grupos independientes, U de Mann-Whitney, Regresión logística binaria controlando confusión.	Tabla, gráfico.
2.Alteración en glicocálix midiendo microcirculación <i>in vivo</i> con videomicroscopio	Tipo de cristaloides utilizado: 1. Expuesto: SSN 2. No expuesto Lactato de Ringer.	Alteración en la medición del PBR.	Score vasoactivo, severidad de la sepsis, escala de mortalidad PIM-2	T-Student, U Mann-Whitney, regresión logística binaria. Test de wilcoxon para grupos dependientes.	Tabla o gráfico.
3.Alteraciones del endotelio medido con Angiopietina-2 y anexina a5.	Tipo de cristaloides utilizado: 1. Expuesto: SSN 2. No expuesto Lactato de Ringer.	Niveles séricos de biomarcadores	Score vasoactivo, severidad de la sepsis, escala de mortalidad PIM-2	Correlación de Spearman, T Student U de Mann-Whitney, regresión logística binaria.	Tabla o gráfico.
4.Tipo de reanimación hídrica y	Tipo de cristaloides utilizado:	Creatinina, bicarbonato, lactato, cloro,	Score vasoactivo, severidad de	T-Student, U Mann-Whitney, regresión.	Tabla, gráfico

desenlaces clínicos.	1. Expuesto: SSN 2. No expuesto de Lactato de Ringer.	sodio, potasio, PCR, ferritina.	la sepsis, escala de mortalidad PIM-2		
5. Modelo predictivo de lesión del glicocálix en niños con sepsis.	Tipo de cristaloiide utilizado: 1. Expuesto: SSN 2. No expuesto de Lactato de Ringer.	Alteración del PBR y biomarcadores plasmáticos	Score vasoactivo, severidad de la sepsis, escala de mortalidad PIM-2	Regresión logística binaria con Test de Mantel y Hanzsel inicialmente para OR.	Tabla

7.12 Consideraciones éticas

La investigación titulada “***Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con soluciones cristaloides***” se ajustó a los principios éticos para investigación en seres humanos, estipulados en la **Declaración de Helsinki** y la **Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos**, proclamadas por la AMM (Asociación Médica Mundial) y la UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura), respectivamente; así como en la **Resolución 8430 de 1993**, expedida por el Ministerio de Salud de la República de Colombia.

En efecto, este **estudio prospectivo de cohortes** siguió las disposiciones establecidas en la totalidad de los artículos (5 al 16) del título II (“de la investigación en seres humanos”) de dicha resolución. Además, de acuerdo con su artículo 11, esta se clasifica como una investigación con **riesgo mínimo**, en vista de que la realización del estudio implica registrar datos de la historia clínica del paciente, especialmente en relación con aquellos procedimientos realizados comúnmente en la unidad de cuidados intensivos pediátricos (e.g. estudios clínicos y estudios paraclínicos). Adicionalmente, se realizó una evaluación del estado de la microvasculatura del paciente, a través de una técnica no invasiva que emplea un vídeo-microscopio portátil de colocación sublingual.

Por otro lado, se establecieron los niveles plasmáticos de diversos marcadores de daño del endotelio y su glicocálix. Para ello, se tomaron muestras de sangre adicionales, a partir del catéter venoso central (o línea arterial) que ha sido insertado en el paciente como parte del protocolo empleado en la unidad de cuidado intensivo pediátrico (UCIP) de la Fundación Cardio-infantil IC, cuando se trata de niños con sepsis severa/choque séptico. Por lo tanto, los pacientes no experimentaron una punción adicional por causa del estudio. Además, el volumen de sangre extraído para la realización de los análisis antes mencionados en ningún caso comprometió la estabilidad clínica del paciente, pues no superó el 0.5% de la volemia. No presentaron ningún tipo de dolor o molestia adicional por la realización del estudio porque, como se ha mencionado ya, durante la realización del protocolo los pacientes estuvieron bajo efectos de sedación /relajación e intubados, y las muestras fueron tomadas de las líneas vasculares previamente descritas.

Por otra parte, aunque el objetivo principal del estudio consiste en establecer la relación entre el tipo de reanimación hídrica instaurada en niños con sepsis, las alteraciones en la integridad del endotelio vascular y el desenlace clínico de los pacientes, es importante subrayar que no se realizó ninguna intervención en estos. En efecto, la administración de la reanimación hídrica con cristaloides se realizó por razones estrictamente médicas y bajo criterio del médico tratante. En ningún caso, por consideraciones debidas a este estudio. Asimismo, dado que la investigación se realizó en menores de edad, se acogió los artículos del capítulo III (“de la investigación en menores de edad o discapacitados”) de la Resolución 8430 de 1993. En efecto, en lo referente al artículo 24, hacemos énfasis en que la reanimación hídrica con cristaloides constituye una práctica de rutina en pacientes con sepsis severa o choque séptico (tanto en adultos como en niños), la cual se hace de manera no diferenciada (i.e. empleando soluciones balanceadas o no balanceadas). Esto, basado en las guías de práctica clínica más recientes. Además, las soluciones empleadas para dicha reanimación poseen registro INVIMA (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos) para su uso en el grupo poblacional contemplado.

Por otro lado, la técnica de videomicroscopía que se utilizó para establecer el estado de la microcirculación del paciente es un método no invasivo que se emplea en pacientes con distintas condiciones clínicas, dentro de las que se incluye el choque séptico. Además, su uso como una herramienta fiable para monitorear las alteraciones del sistema microvascular, incluido el glicocálix endotelial, ha sido validado en servicios de urgencias y cuidado intensivo. Igualmente, se ha demostrado que su empleo no genera ningún tipo de

riesgo para el paciente, ni afecta negativamente o retrasa las intervenciones ordenadas por el médico tratante. Esto, dado que el tiempo promedio de la medición es de dos minutos. En lo referente al cumplimiento de los artículos 6, 25 y 26 de la resolución antes mencionada, este estudio contempla la obtención del **consentimiento informado (anexo 1)** de aquellos que ejerzan la patria potestad o la representación legal del menor y garantizando la toma de una decisión libre y autónoma por parte de estos. Dicho consentimiento, cuyo formato se anexa, cuenta con el sello de aval del Comité Institucional de Ética para Investigación en Humanos de la Universidad CES, así como el del Comité de Ética en Investigación Clínica de la Fundación Cardio-infantil IC. Al ser niños que se encuentran intubados (criterio de inclusión), bajo efectos de sedación, analgesia o bloqueo neuromuscular continuo por la enfermedad de base, para facilitar la medición del grosor del glicocálix sublingual con el videomicroscopio, se considera de acuerdo con el artículo 26 de la misma resolución, que el paciente **no tiene un nivel de consciencia suficiente que le permitió firmar un asentimiento informado.**

Además, la obtención del consentimiento se realizó en presencia de dos testigos, uno del paciente y otro del investigador cuya firma será registrada en el consentimiento. Asimismo, el investigador principal entregó (a los representantes legales del niño) una copia de dicho consentimiento. La entrega de dicha copia se registró empleando un formato para tal fin, el cual es anexado. Sin embargo, no se consideró la obtención de una certificación sobre la capacidad de entendimiento, razonamiento y lógica de los niños incluidos en el estudio, ni tampoco la consecución de un asentimiento informado. Esto, pues los pacientes se encuentran intubados, bajo efectos de sedación, analgesia o bloqueo neuromuscular continuo, dada su condición clínica, como ya se mencionó.

Al mismo tiempo, recalamos que, dado que se trató de una investigación en la cual el objeto del estudio es un ser humano menor de edad, prevaleció el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y su bienestar, tal y como lo establece el artículo 5 de la Resolución 8430 de 1993. De la misma manera, se honró el **principio de beneficencia**, pues los niños incluidos en el estudio recibieron la atención normalmente ofrecida por el equipo de profesionales de la UCIP de la Fundación Cardio-Infantil, la cual sigue altos estándares de calidad técnica y humana.

Además, a estos niños se les realizó una evaluación del estado de la microvasculatura y de la integridad del endotelio vascular (i.e. el beneficio directo). Tal evaluación no hace parte de los exámenes de rutina durante la estancia en UCIP, pero podrían ser de utilidad para la toma de decisiones terapéuticas por parte del médico tratante. Adicionalmente, el costo

económico de tales análisis fueron subvencionado en su totalidad por el presupuesto de la investigación. Por otro lado, el propósito principal del estudio consiste en brindar evidencia que permita realimentar las guías de práctica clínica en el contexto de niños con sepsis severa/choque séptico. Esto, a largo plazo, facilita la toma de decisiones del equipo profesional de la UCIP, con respecto al abordaje terapéutico de los niños con esta condición.

En lo referente al **principio de no maleficencia**, tal y como se mencionó anteriormente, ninguno de los niños incluidos en el estudio fue sometido a procedimientos invasivos o dolorosos por causa de este estudio, ni ningún otro que comprometiera la estabilidad clínica del paciente o indujera un sufrimiento adicional. Por otro lado, se preservó el **principio ético de justicia**, pues los niños incluidos en el estudio recibirán la atención ofrecida por la UCIP de la Fundación Cardio-infantil, acorde con el diagnóstico y pronóstico de la condición clínica que padece. Esto incluye la reanimación hídrica con cristaloides, en las condiciones estipuladas por el médico tratante.

Igualmente, en este estudio se respetó **el principio de autonomía** de aquellos que ejerzan la patria potestad o la representación legal del menor, pues el investigador les explicó en qué consiste el protocolo de investigación, incluidos el propósito, alcances y condiciones de participación. Esto, de manera clara y suficiente, así como resolviendo las dudas que puedan surgir al respecto, con el objetivo de propender por la toma de una decisión informada, haciendo claridad en que los pacientes no pudieron asentir porque como se explicó claramente en los criterios de inclusión, los niños estaban intubados para efectos de sedación o relajación lo que les impide tener un nivel de consciencia suficiente para tomar decisiones.

Además, los representantes legales del menor podían manifestar su deseo de no autorizar la participación del menor en la investigación, sin que dicha decisión tuviera implicación alguna en la atención ofrecida al paciente en su estancia en la UCIP. Así mismo, a los pacientes se les garantizó la posibilidad de ser retirados del estudio, en cualquier momento en el que ellos o sus representantes legales lo soliciten, manifestando su deseo de manera verbal o escrita, durante cualquier fase de la ejecución del proyecto y sin ningún tipo de repercusión negativa.

Por otro lado, se protegió la confidencialidad o reserva de la identidad de los individuos que participaron en la investigación, omitiendo cualquier dato que permita identificarlos en el momento de la divulgación de los resultados. Esto, a través de procesos de anonimización. Del mismo modo, la información proveniente de los pacientes fue manejada de manera

responsable y solo con los fines científicos aquí establecidos. Además, tal información fue tratada de acuerdo con la normatividad colombiana para la protección de datos personales, consignada en la **Ley Estatutaria 1581 de 2012** y el **Decreto 1377 de 2013**, el cual reglamenta dicha ley. Asimismo, el manejo de la historia clínica de los pacientes se realizó según la **Resolución 0839 de 2017** del Ministerio de Salud y Protección Social.

Finalmente, la ejecución de la investigación solo se realizó con el aval y seguimiento de los comités de ética antes mencionados. El comité de ética de la Universidad CES en su acta No 146 del 15 de abril del 2020 dio aprobación a la realización del proyecto. De la misma manera, el Comité de investigaciones de la Fundación Cardioinfantil dio su aprobación con el número CEIC 4222-2020 que está consignada en el acta 03-2020 del 12 de febrero del 2020. Adicionalmente, el equipo investigador se comprometió a realizar una investigación científica transparente, así como al cumplimiento de las políticas pertinentes relacionadas con integridad en la investigación. Así mismo, respetará la normatividad vigente en lo referente a propiedad intelectual.

8. RESULTADOS

Se presentarán los resultados en el orden en el que fueron planteados los objetivos específicos. Es importante aclarar que, los resultados aquí presentados corresponden al reclutamiento de pacientes hasta del 31 de julio del 2021, dado que existió atraso en el cronograma planeado dado la pandemia por Covid-19. Corresponde al 72% del tamaño muestral calculado lo que fue aprobado por la Universidad en consideración como se ha mencionado a las dificultades por la pandemia. Esta pandemia nos atraso en la aprobación de este proyecto en los diferentes comités, consecución de recursos económicos para su realización y además gran parte de las unidades de cuidado intensivo pediátrico del país se volvieron unidades para atender adultos. No obstante, se superaron paulatinamente estas dificultades y se presentan los resultados obtenidos hasta la fecha en mención.

8.1 Objetivo 1

*Describir y analizar las **características demográficas, clínicas y paraclínicas** en niños con sepsis severa/choque séptico, que se encuentran hospitalizados en la unidad de cuidado intensivo pediátrico de la Fundación Cardioinfantil-IC y a los que se les administra reanimación hídrica con cristaloideos balanceados y no balanceados.*

Durante el periodo del estudio se incluyeron 66 pacientes con sepsis grave (sepsis con disfunción de órgano) o choque séptico (Tabla 6). De estos, 32 niños (48.50%) recibieron soluciones balanceadas y 34 (51.50%) soluciones no balanceadas. Las dos cohortes tuvieron características demográficas y clínicas similares; excepto que el servicio de urgencias fue el principal sitio desde el cual se produjo el ingreso a UCIP, en el caso del grupo que recibió soluciones no balanceadas.

Con respecto al tipo de seguridad social, 41 de los 66 (61,5%) pacientes pertenecían al régimen contributivo. La principal causa de hospitalización en UCIP fueron los problemas gastrointestinales en 20 (30.2%) pacientes, seguidos de la patología respiratoria en el 21.2% (14/66) de los casos. Tuvimos 9 (13.6%) pacientes con ingreso a terapia intensiva por patología asociada a la infección por SARS-CoV-2. De ellos, tres cursaron con síndrome inflamatorio multisistémico asociado a COVID-19 (MIS-C). A este respecto, toda la investigación se desarrolló durante la pandemia por COVID-19. Los principales focos infecciosos causante de la sepsis fueron los problemas de origen respiratorio en el 34.8% (23/66) de los casos y los problemas de origen gastrointestinal en el 34.8% (23/66) de los

pacientes. El 50% (33/66) de los casos presentó choque séptico al momento del ingreso al estudio, de los cuales el 16.7% (11/66) estaban hipotensos al momento en el que se ordenó el bolo de cristaloides.

No se observó diferencias entre los dos grupos en lo que respecta el riesgo basal de morir, obtenido con la escala PIM-2 (22.4 [13.4-31.5] vs 18.4 [9.8-31.5]; $p = 0.2$). Adicionalmente, en las primeras 24 horas de ingreso a UCIP se aplicó la escala de falla orgánica (PELOD-2) que básicamente se encontró más elevada en el grupo que recibió solución balanceada. En total, 4 de los 66 niños fallecieron (6.1%) durante su estancia en UCIP, sin observar diferencias entre los dos grupos según el tipo de solución recibida.

Tabla 6. Características demográficas, clínicas y paraclínicas basales de la población estudiada.

Característica	Balanceadas n=32	No balanceadas n=34	Valor de P*
Edad años (RIQ)	6.1 (0.58 - 13.5)	9.5 (0.73-14)	0.32
Peso en Kg (RIQ)	15.5 (6.8 - 38.7)	25.5 (6.9 - 49.2)	0.43
Talla cm (RIQ)	112 (67 - 156)	129 (67 - 156)	0.61
Sexo Masculino (%)	11 (34)	17 (50)	0.45
Días estancia UCIP (RIQ)	14 (7.5 - 21)	10 (6 - 19)	0.23
Seguridad social (%)			
Subsidiado	9 (28)	11 (32)	0.42**
Contributivo	22 (69)	22 (65)	
Póliza	1 (2)	0	
Otro	0	1 (3)	
Foco Infeccioso (%)			0.41**
Respiratorio	15 (47)	8 (23)	
Gastrointestinal	10 (29)	14 (41)	
Genitourinario	0	1 (3)	
SNC	1 (3)	3 (9)	
Otros	6 (19)	8 (24)	
Origen admisión (%)			0.03**

Urgencias	4 (12)	12 (35)	
Piso	7(22)	6 (18)	
Remisión	10 (32)	5 (15)	
Cirugía	11 (34)	11 (32)	
Clasificación sepsis (%)			0.35**
Sepsis severa	13 (39)	20 (59)	
Choque séptico	19 (61)	14 (41)	
Ausencia comorbilidades (%)	6 (22)	8 (24)	0.94
Tipo de comorbilidades (%)			0.55**
Respiratoria	5 (19)	8 (24)	
Gastrointestinal	10 (37)	12 (35)	
Genitourinario	2 (7)	1 (3)	
Sistema Nervioso Central	1 (4)	0	
Cardiovascular	0	3 (9)	
Otros	8 (33)	10 (29)	
PRISM III (%)	16.7 (6.1)	13.8 (7.7)	0.81
PIM-2 (RIQ)	22.4 (13.4 - 31.5)	18.4 (9.8 - 31.5)	0.23
Score PELOD-2 (RIQ)	9 (8 - 11)	7 (4 - 9)	0.01
Hemocultivo positivo (%)	1 (4)	6 (16)	0.26
Prueba Rápida viral positiva*(%)			0.01**
Respiratorio	11 (34)	13 (38)	
Gastrointestinal	1 (3)	2 (6)	
Hemocultivo	4 (12)	19 (56)	
Ninguno	16 (50)	0	
Ventilación Mecánica (%)	23 (72)	23 (68)	0.24
Score Vasoactivo (RIQ)	10 (6 - 20)	11 (5 - 20)	0.72
Datos de laboratorio			
PCR mg/dL (±DS)	5.5 (5.9)	8.1 (8.2)	0.23
PCT ng/mL (±DS)	4.6 (10.5)	3.2 (5.3)	0.42
Lactato mmol/Lit (RIQ)	1.54 (1.12 - 2.20)	1.17 (0.89 - 1.51)	0.02
pH (±DS)	7.39 (0.07)	7.42 (0.06)	0.44
Ferritina mg/dL (RIQ)	445.2 (236-1620)	490 (181 - 1507)	0.25

Albúmina g/dL (\pm DS)	2.99 (0.79)	3.23 (0.47)	0.16
Creatinina mg/dL (\pm DS)	0.89 (1.5)	0.62 (0.51)	0.32
Glucemia mg/dL (\pm DS)	124 (35)	115 (26)	0.26
Milrinone (%)	14 (52)	13 (38)	0.46
Mortalidad (%)	3 (9)	1 (3)	1.12

PIM-2: Pediatric index Mortality-2, PELOD-2: Pediatric Logistic Organ Dysfunction, PCR: proteína C reactiva, PCT: procalcitonina. *Prueba de T-Student – U Mann Whitney según distribución variable. **Chi² de Pearson.

No todos los pacientes tenían comorbilidades. En efecto, aproximadamente uno de cada cuatro pacientes estudiados no presentaron comorbilidades, sin diferencias entre los dos grupos de cristaloides. Cuando estuvieron presentes, la comorbilidad más frecuente fue de origen gastrointestinal (34% 29/66), particularmente pacientes con enfermedad hepática crónica, debido a que la institución es un centro de referencia para trasplante hepático pediátrico. De hecho, tuvimos 9/66 (13.6%) pacientes incluidos en el estudio en periodo posoperatorio inmediato de trasplante hepático.

La mayoría de los pacientes recibieron soporte con ventilación mecánica invasiva en ambos grupos (Tabla 6). No se observaron diferencias en la necesidad de soporte vasoactivo entre el grupo de soluciones balanceadas y de no balanceadas, debido a que evidenciaron un score vasoactivo similar. Se usaron medicamentos vasopresores como noradrenalina, vasopresina y adrenalina. El grupo de soluciones balanceadas recibió más frecuentemente inodilatadores (Milrinone), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa con respecto al grupo de soluciones no balanceadas (Tabla 6). Estos medicamentos vasoactivos fueron iniciados a criterio del médico tratante. No se observaron diferencias en ninguno de los biomarcadores plasmáticos de respuesta inflamatoria, función renal y equilibrio ácido base (Figura 7), antes de recibir bolos de cristaloides. El 41.7% de los niños tenía hipoalbuminemia y un 32% del total (21/66) recibieron infusión de albúmina al 20%. Se obtuvo aislamiento de germen en el 12.1% de la población, principalmente en los hemocultivos.

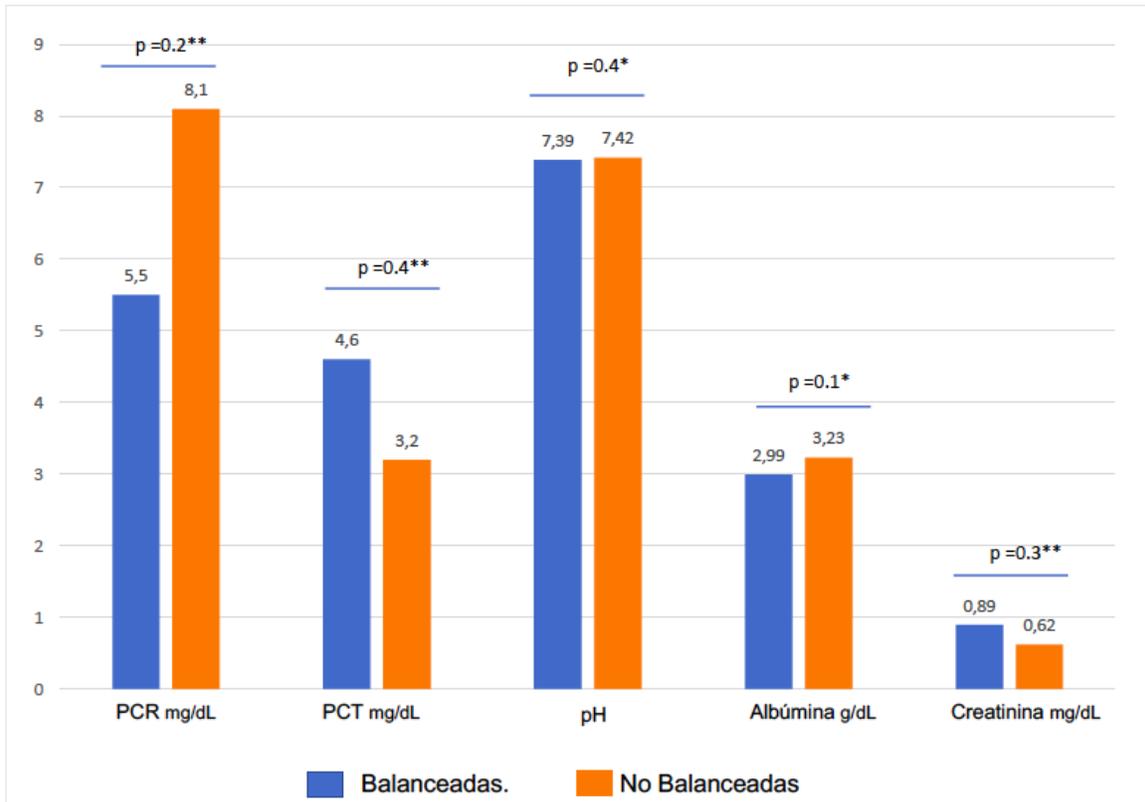


Figura 7. Biomarcadores según tipo de cristaloides de respuesta inflamatoria, función renal, equilibrio ácido base al momento de ingreso según el tipo de solución utilizada. No se observó diferencias entre los dos grupos antes de recibir el bolo de cristaloides en estos biomarcadores. PCR: proteína C reactiva. PCT: procalcitonina. pH: potencial de hidrogeniones. *Prueba de T-Student - **U Mann Whitney.

No obstante, en la línea de base, la única diferencia estadísticamente significativa en el grupo niños que recibió soluciones balanceadas era que tenían un nivel de lactato mayor, lo cual concuerda con el hecho de que la escala PELOD-2 estuviera más elevada en dicho grupo (Figura 8). Dentro de sus variables, esta escala involucra el nivel de lactato sérico. Pero, aunque el fue mayor en el grupo mencionado, estuvo por debajo de 2 mmol/L, cifra considerada como normal para población pediátrica.

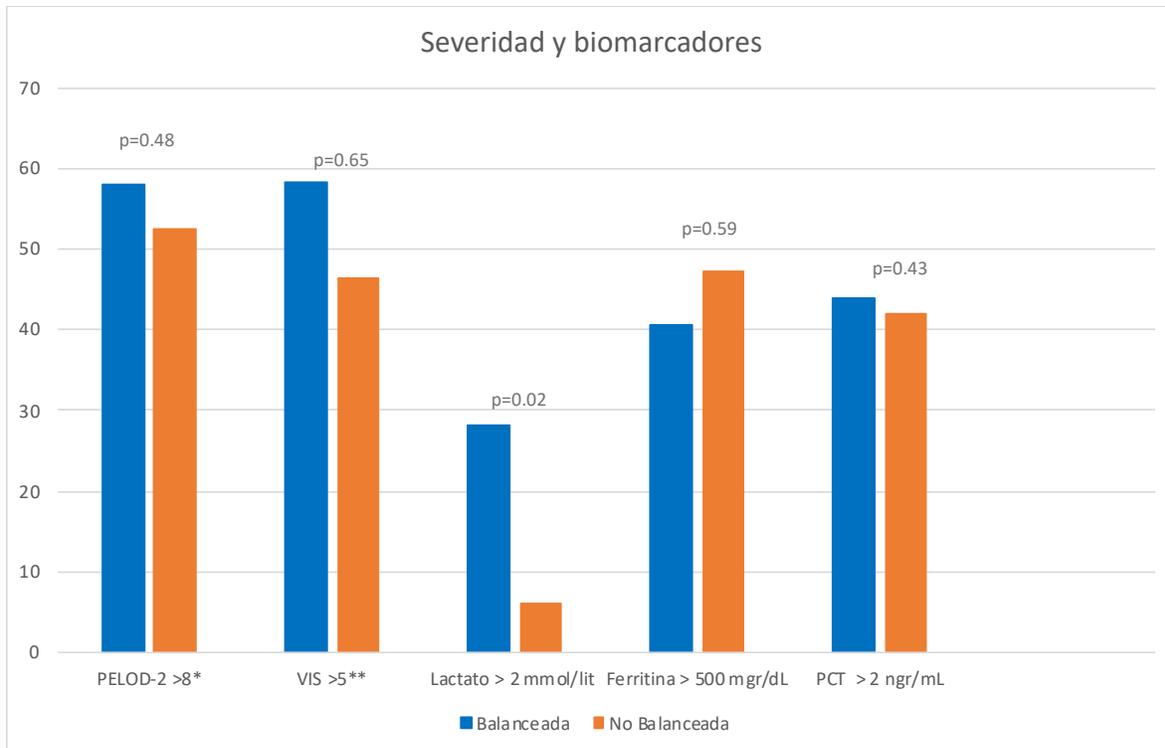


Figura 8. Severidad de enfermedad medida con escala PELOD-2, VIS y biomarcadores entre los dos grupos de pacientes estudiados. Se observa un lactato basal más alto en el grupo de balanceadas. *Prueba de Chi2 de Pearson y test exacto de Fisher.

8.2 Objetivo 2

Estimar el grado de alteración del glicocálix endotelial, a través de la medición directa no invasiva de la microcirculación sublingual, empleando video-microscopía, así como la medición de los niveles plasmáticos de biomarcadores de daño del glicocálix (sindecano-1, endocan) en la población de estudio, antes y después de recibir reanimación hídrica con cristaloides.

Como se describió en la sección de métodos, se estimó el grado de alteración del glicocálix endotelial en los niños con sepsis a través de la medición de la microcirculación sublingual en la cabecera del paciente (Figura 9). Se utilizó el *Glycocheck System®* que es un videomicroscopio de campo oscuro que mide el daño endotelial y la degradación del glicocálix a nivel sublingual, como se explicó anteriormente en el marco teórico. La información obtenida fue procesada por el software que calcula diferentes variables de la microcirculación, densidad capilar y grosor del glicocálix. El equipo mide el PBR (del inglés

perfusión boundary región, o región límite perfundida) que es una medida inversamente proporcional al grosor del glicocálix endotelial. Es decir, a mayor nivel de PBR, menor es el grosor del glicocálix. En adultos y niños sin sepsis, se ha considerado como valor normal una cifra inferior a 2.0 μm . Un valor mayor a este nivel sugiere, por lo tanto, un daño del glicocálix (Figura 9).



Figura 9. Medición de la microcirculación sublingual. A. Imagen en niños críticos del proceso de medición de la microcirculación sublingual y el glicocálix endotelial. B. Cálculo del software del Glycocheck System® de las variables de la microcirculación incluyendo el PBR. PBR: *perfused boundary región*. Se observa en la parte superior los valores numéricos que informa el software y en la parte inferior los valores en los diferentes tiempos de medición.

En nuestros pacientes, en la medición basal (i.e. realizada en el tiempo 0) con el videomicroscopio, se observó una importante alteración del glicocálix endotelial, tanto en el grupo que recibió soluciones balanceadas como en el que recibió soluciones no balanceadas (Tabla 7 – Figura 10). Del total de la población estudiada, el 75.6% (50/66) tenían un PBR mayor a 2.0 μm , antes de recibir bolos de cristaloides. Esta alteración del glicocálix endotelial se relaciona con la severidad de la sepsis. En efecto, en niños con choque séptico, el PBR se observó más frecuentemente elevado en comparación con aquellos niños que experimentaron sepsis grave (87.9% vs 63.6%; $p = 0.02$) (Figura 10C), antes de la administración del bolo de cristaloides. Los pacientes que presentaron choque séptico, además, tuvieron mayor riesgo de tener alteraciones basales del glicocálix con respecto a los pacientes con sepsis grave (RR 4.14 IC95% 1.17 – 14.65; $p = 0.04$).

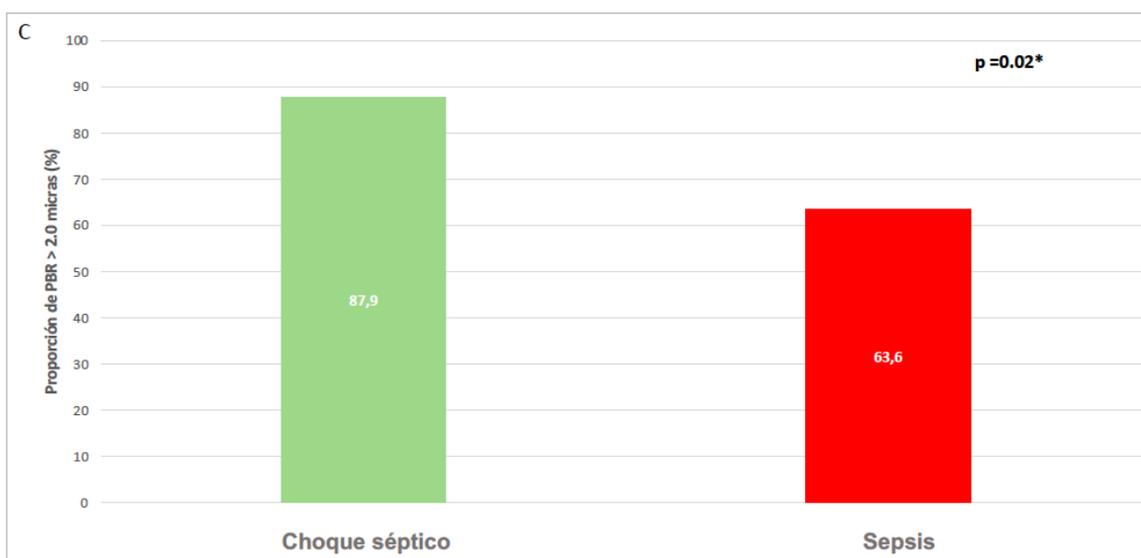
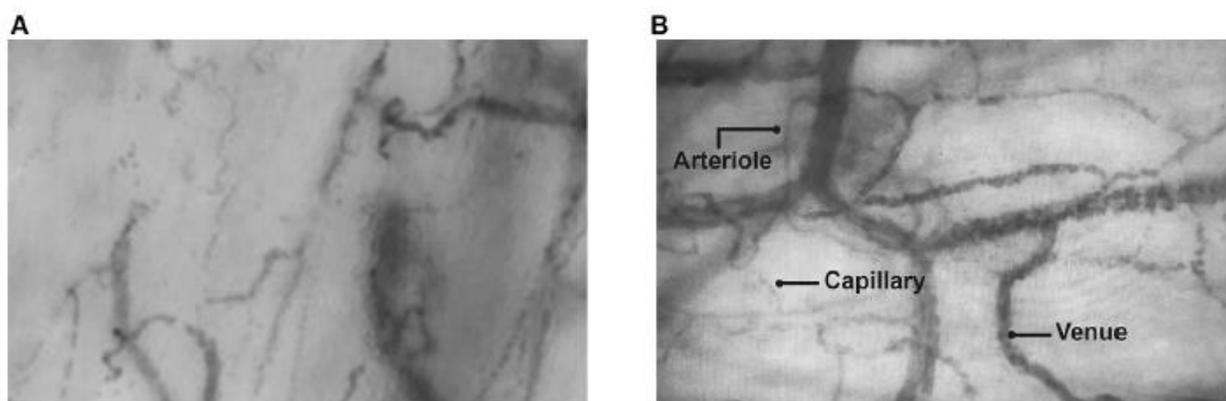


Figura 10. Imágenes de la microcirculación sublingual tomadas con el videomicroscopio. A. Imagen de paciente en estado de choque, en donde se observa menor proporción de vasos sanguíneos y menor reclutamiento capilar. B. Imagen de la microcirculación de un niño sano de 8 años en donde se observan las estructuras normales. Figura original de los autores (referencia 77). C. Proporción de pacientes con PBR mayor a 2.0 micras según severidad de la sepsis. *Prueba de Chi² de Pearson.

Adicionalmente, a las dos horas de administrados los cristaloides se observó que existía poca variabilidad del PBR con respecto al valor basal (Tabla 7). No obstante, al realizar la medición a las 6 horas, luego de la administración de estos bolos, se observó una reducción importante del PBR en el grupo que recibió soluciones balanceadas respecto al grupo que recibió reanimación hídrica con soluciones no balanceadas (2.087 vs 2.247; $p < 0.01$). En este mismo sentido, la medición realizada a las 24 horas mostró un regreso del valor del PBR a cifras similares a las obtenidas en la línea de base, antes de la administración del bolo de cristaloides, sin diferencias entre los dos tipos de soluciones ($p = 0.63$) (Tabla 7 - Figura 11).

Tabla 7. Valores de PBR en los diferentes tiempos de medición y según tipo de solución de cristaloides utilizada.

Variable de alteración del glicocálix	Tiempo de medición	Solución Balanceada	Solución No Balanceada	Dif Medias	Valor p ^a
PBR (±DS)	Basal	2.224 (0.28)	2.158 (0.27)	(-) 0.06	0.33
PBR (±DS)	2 horas	2.188 (0.26)	2.177 (0.25)	(-) 0.11	0.87
PBR (±DS)	6 horas	2.087 (0.26)	2.247 (0.21)	(-) 0.16	0.001
PBR (±DS)	24 horas	2.251 (0.31)	2.213 (0.30)	(-) 0.04	0.63

PBR: región límite perfundida (*del inglés Perfusion Boundary región*).

^a Prueba de T-Student para muestras independientes con varianzas iguales / Test de ANOVA de muestras pareadas para cada grupo analizado.

Al evaluar el comportamiento del PBR en cada grupo, específicamente con el uso de soluciones balanceadas, se observó elevación de este biomarcador imagenológico desde el nivel de medición basal, como se describió previamente. No obstante, luego de 2 horas de administrado el bolo existe una tendencia al descenso en el valor del PBR, cuyo pico

máximo ocurre a las 6 horas luego de su administración (Dif medias (-) 0.137; $p = 0.04$) con respecto al nivel basal. A las 24 horas, el valor del PBR regresa a niveles cercanos a los basales (Dif medias (-) 0.027; $p = 0.71$) (Figura 12 A). Con las soluciones no balanceadas se observa un comportamiento diferencial también (Figura 12 B). Existe una tendencia al aumento progresivo del PBR desde el nivel basal, llegando a ser máximo a las 6 horas luego de su administración (Dif medias (+) 0.090; $p = 0.09$). Posteriormente, existe un descenso a las 24 horas, alcanzado un nivel que es superior al nivel basal de medición.

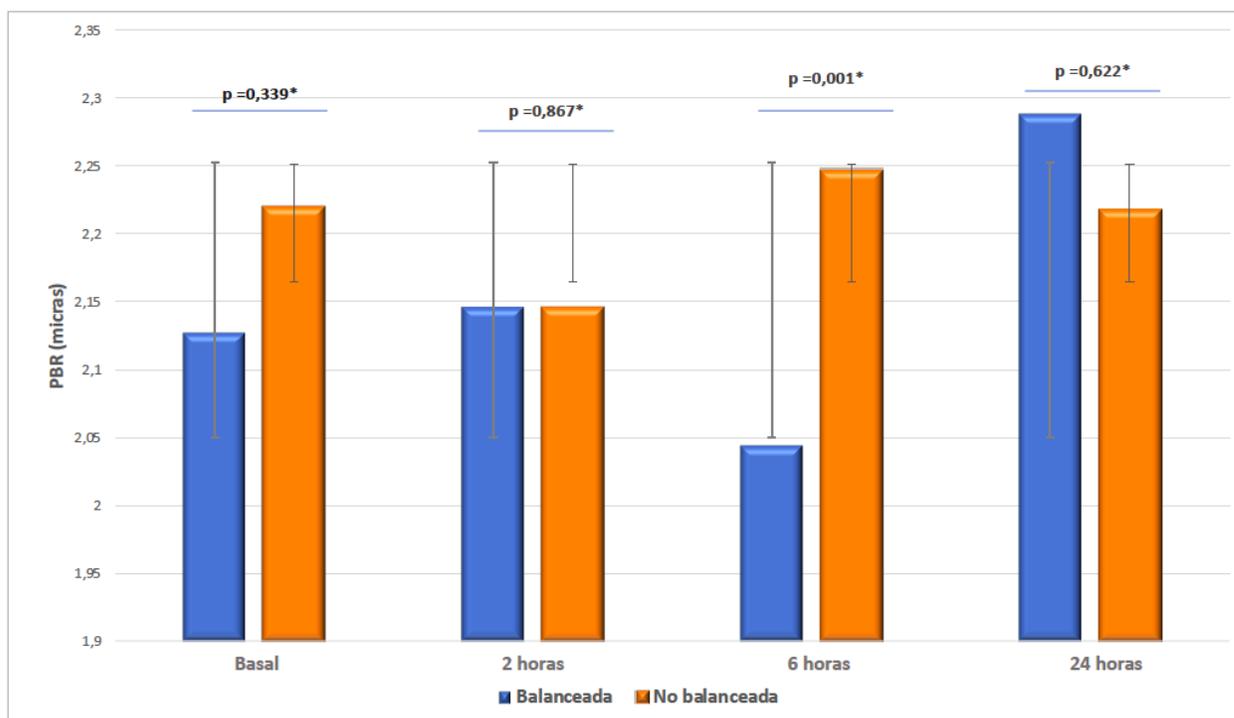
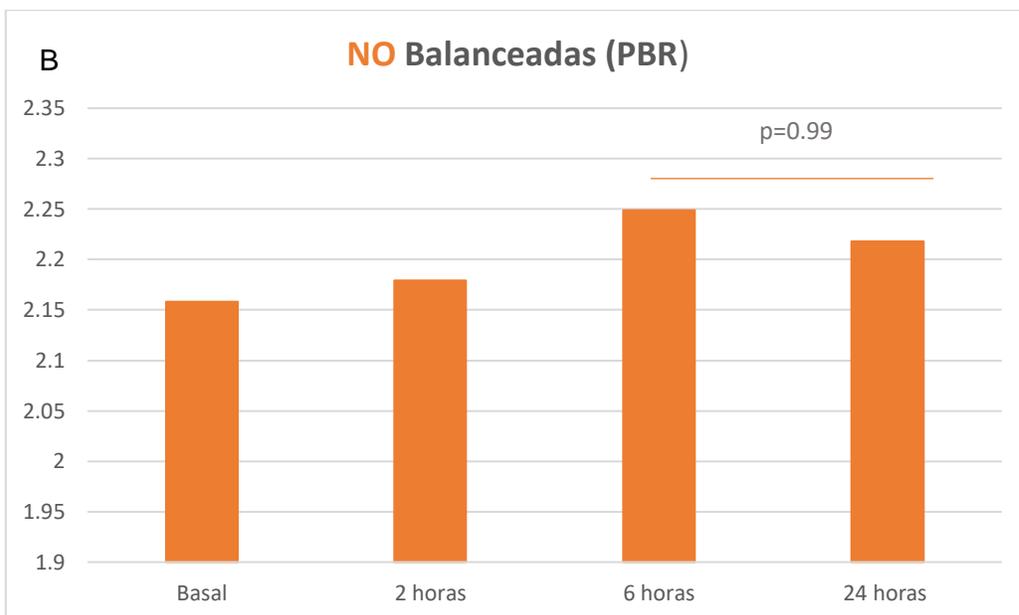
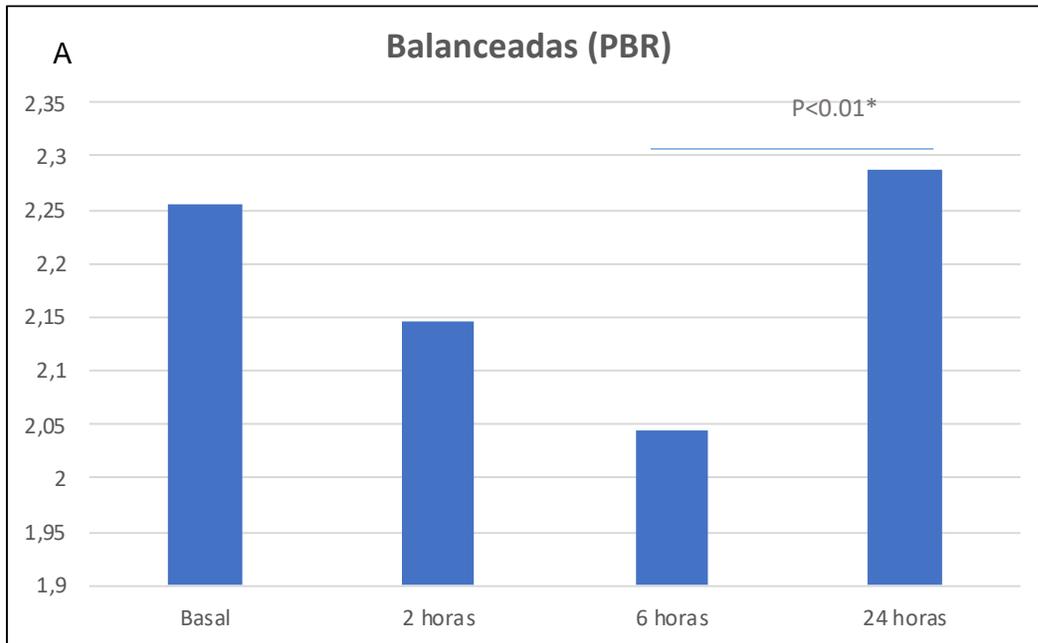


Figura 11. Cambios en el PBR en los diferentes momentos de medición y tipo de solución utilizada. Se observa una tendencia con soluciones no balanceadas a ser más alta a las 6 horas de administradas comparado con la solución balanceada. *Prueba de T-Student varianzas iguales para muestras independientes.

En este orden de ideas, el mayor riesgo de lesión del glicocálix endotelial alcanzó su pico máximo a las 6 horas posteriores a la administración de los cristaloides. Además, luego de transcurridas 2 horas de la administración de los bolos, el 73.5% de los pacientes que recibió soluciones no balanceadas tenía un PBR alterado, frente al 71.9% de aquellos que recibieron soluciones balanceadas (RR 1.09; IC95% 0.37- 3.21; $p = 0.88$). A las 6 horas de

administrados los cristaloides, el 88% de los pacientes que recibieron soluciones no balanceadas exhibió daño del glicocálix endotelial con respecto al 59.4% dentro del grupo que recibió soluciones balanceadas (RR 5.13: IC95% 1.46 – 18.08; $p = 0.01$). Sin embargo, tras 24 horas de ocurrida la aplicación, el 82.4% de quienes recibieron una solución no balanceada tenía alterado el glicocálix endotelial, frente al 87.5% de aquellos que recibieron soluciones balanceadas (RR 0.67: IC 95% 0.17 – 2.62; $p = 0.73$) (Figura 12 C).



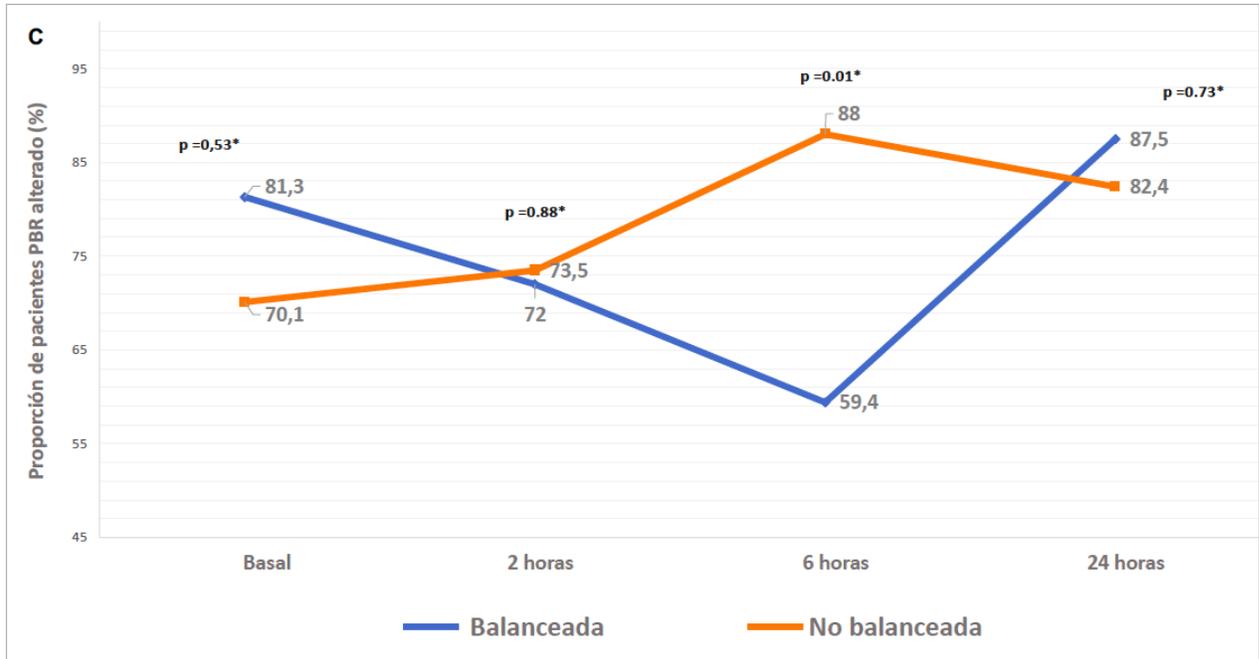


Figura 12. Comportamiento del PBR según tipo de solución utilizada en los tiempos de evaluación. A. Soluciones balanceadas. B. Solución No Balanceada. *Test de ANOVA para muestras repetidas con *post hoc* de Bonferroni. C. Porcentaje de pacientes con PBR alterado según tipo de cristaloides. *Test de Chi2 de Pearson. Se observa en todas las figuras un pico máximo de daño del glicocálix endotelial a las 6 horas con el uso de soluciones no balanceadas comparadas con las soluciones balanceadas.

En este mismo sentido, también se realizó medición de biomarcador plasmático de daño del glicocálix, antes y después de la aplicación de un bolo de cristaloides. En efecto, medimos los niveles de sindecano-1 antes del bolo, a las 2 y a las 6 horas post-administración, en 36 pacientes de la muestra estudiada (Tabla 8). De estos 16 recibieron soluciones balanceadas y 20 soluciones no balanceadas. No se realizó en la totalidad de los pacientes por no disponer del kit para todos los pacientes estudiados en este análisis. En personas sanas se considera un valor normal cuando este es menor a 80 ng/mL. Antes de la administración de los bolos de cristaloides, se observaron niveles superiores a esta cifra en el 86.1% de los casos (31/36) de la población estudiada, siendo más alto en los pacientes con choque séptico que en los niños con sepsis grave (129.68 ng/mL [RIQ 83.15-204.56] vs 101.66 ng/mL [68.51-187.13]; p = 0.31).

De manera específica, en los dos grupos se encontró alterado el sindecano-1 en su medición basal (Tabla 8). Además, en ambos grupos también se observa una tendencia al incremento en los niveles del biomarcador frente al nivel basal a las 2 horas de administrados los cristaloides (Figura 13 y 14). Posteriormente, a las 6 horas, los valores se mantienen elevados en el grupo de aquellos que recibió solución salina, mientras que se observa una tendencia a la disminución del sindecano-1 en el grupo que recibió soluciones balanceadas ($p=0.1$).

Tabla 8. Valores de sindecano-1 (ng/mL) en los diferentes tiempos de medición y según tipo de cristaloides

Variable	Balanceada N=16	No balanceada N=20	Valor de p ^a
Basal (RIQ)	116 (90 - 134)	123 (58 - 229)	0.62
2 horas (RIQ)	121 (100 - 144)	129 (58 - 223)	0.61
6 horas (RIQ)	104 (58 - 152)	125 (83 - 221)	0.37

^a Test U de Mann Whitney para dos grupos independientes / Test de Kruskal wallis para análisis de cada grupo.

Específicamente, los niveles plasmáticos de sindecano-1 aumentan un 4,3% a las 2 horas de administrados con respecto a la medición basal, en el grupo que recibió soluciones balanceadas. Sin embargo, a las 6 horas de administrada la solución balanceada se observa un descenso del 10.4% con respecto al valor basal (Figura 14).

Con el grupo de soluciones no balanceada no se observan los cambios antes descritos. A las 2 horas de su administración, existe un aumento del 4.4% con respecto al nivel basal, con una proporción de aumento similar en frente a las soluciones balanceadas. No obstante, a las 6 horas de administrada la solución no balanceada, no se observa descenso de los valores frente a los valores basales y, por el contrario, su nivel permanece elevado siendo muy similar al nivel basal (un 2% más alto) (Figura 14).

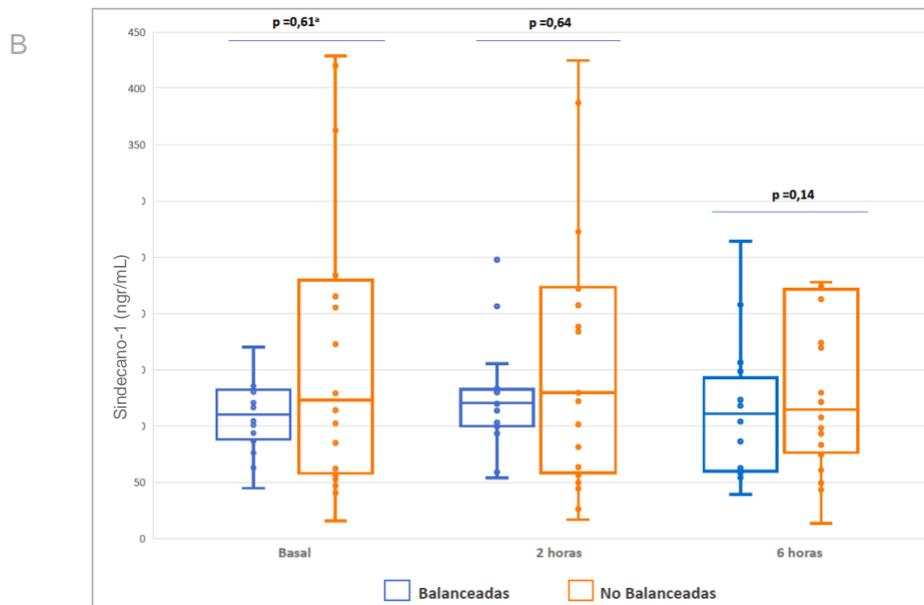
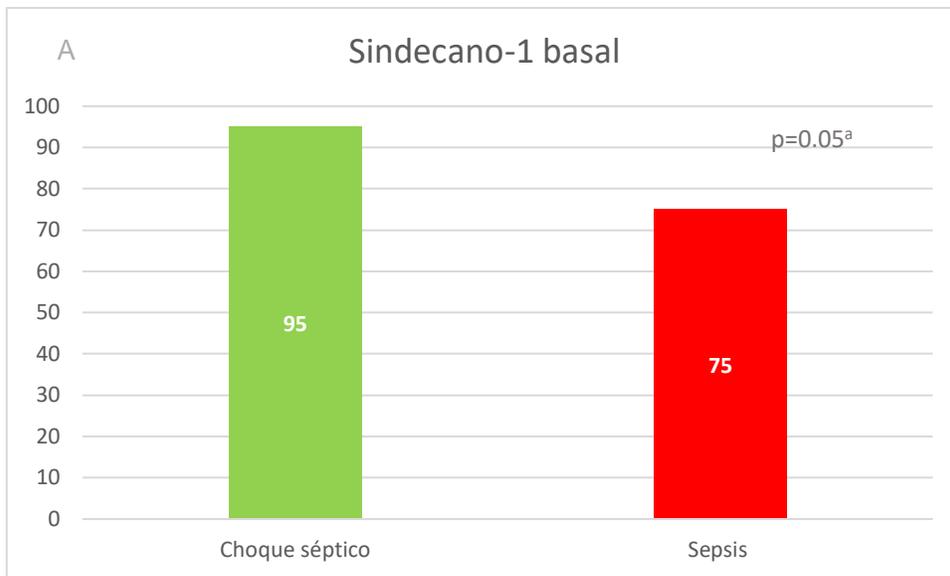


Figura 13. A. Niveles alterados de sindecano-1 según severidad de la sepsis ^aChi2 Pearson. B. Comportamiento del sindecano-1 según el tipo de solución en los tiempos de evaluación. Se observa que el sindecano-1 tiene una tendencia al descenso a las 6 horas en los pacientes que reciben soluciones balanceadas y se sostiene casi igual en el grupo con soluciones no balanceadas ^a Test U de Mann Whitney.

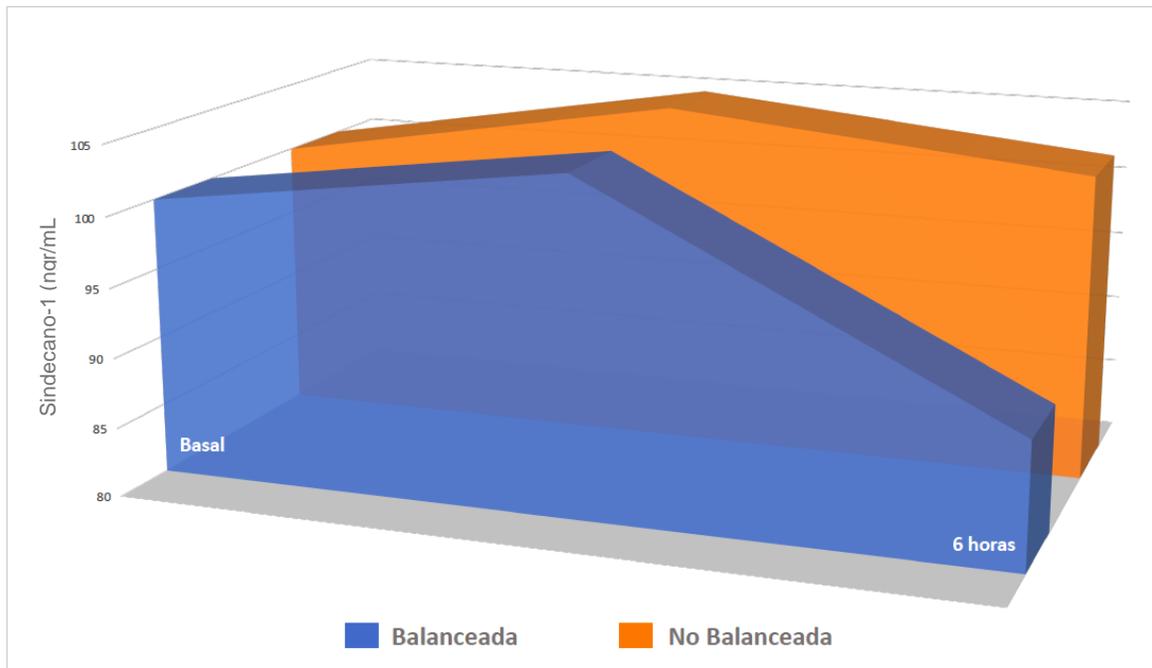


Figura 14. Proporción de cambio del sindecano-1 desde su nivel basal según el tipo de cristaloides utilizado. Se observa mayor proporción de descenso con la solución balanceada que con la solución no balanceada.

El otro biomarcador plasmático de daño del glicocálix endotelial medido fue el endocan. Se midió en la línea basal y a las 6 horas de administrado el bolo de cristaloides en 33 pacientes (Tabla 9). De estos 15 recibieron soluciones balanceadas y 18 soluciones no balanceadas. No se realizó en la totalidad de los pacientes por no disponibilidad de la prueba para todos. Inicialmente, se observó alterado (> 1.6 ng/mL) en el 65.6% (21/33) de los pacientes. Aunque se observó un valor absoluto más alto en el grupo que recibió soluciones balanceadas en la línea basal, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0.13$). Asimismo, en los dos grupos, a las 6 horas de administrados los cristaloides se observó tendencia al descenso con respecto al nivel basal sin diferencias entre los grupos.

Tabla 9. Valores de endocan (ng/mL) en los diferentes tiempos de medición y según tipo de cristaloides

Variable	Balanceda N=15	No balanceada N=18	Valor de p ^a
Basal (RIQ)	2.40 (1.80 – 3.80)	1.60 (0.80 – 3.10)	0.13
6 horas (RIQ)	1.80 (1.40 – 2.70)	1.20 (1.00 – 3.00)	0.84

^a Test U de Mann Whitney

En el grupo de soluciones balanceadas se observó una disminución del 24.5%, mientras que en el grupo de soluciones no balanceadas el descenso fue del 25% (p=0.125).

8.3 Objetivo 3

*Determinar la **afectación del componente celular del endotelio vascular**, a través de la medición de **biomarcadores plasmáticos (angiopietina 2, anexina a5)** en la población de estudio, **antes y después de recibir reanimación hídrica con diferentes tipos de cristaloides** y su asociación con la alteración de otros biomarcadores y daño del glicocáliz. La angiopietina-2 (Ang-2), un biomarcador de activación y aumento de la permeabilidad vascular endotelial en condiciones de inflamación (e.g. sepsis) fue evaluado antes de la administración del bolo de cristaloides (nivel basal) y a las 6 horas luego de su administración, en 34 pacientes (Tabla 10 – Figura 15A). De estos 17 recibieron soluciones balanceadas y 17 no balanceadas. No se realizó en la totalidad de los pacientes por no disponibilidad del kit para su realización en todos.*

Tabla 10. Valores de angiopietina-2 (ng/mL) en los diferentes tiempos de medición.

Variable	Balanceda N=17	No balanceada N=17	Valor de p ^a
Basal (RIQ)	11.60 (7.0 – 24.7)	11.15 (7.3 – 23.5)	0.96
6 horas (RIQ)	10.08 (6.2 – 22.4)	14.95 (9.1 – 24.7)	0.40

^a Test U de Mann Whitney

En los dos grupos se encontró un nivel basal de Ang-2 por encima del valor de referencia para niños que no tienen inflamación aguda secundaria a infección (1.6 ng/mL) (83). Sin embargo, el biomarcador se encontró más elevado en el grupo de pacientes con choque

séptico en comparación con aquellos pacientes con sepsis grave (15.85 ng/mL [7.60-24.40] vs 10.50 ng/mL [7.10-22.10]; $p = 0.22$).

No se observaron diferencias en el nivel de Ang-2 basal entre las soluciones balanceadas y no balanceadas. No obstante, a las 6 horas de administración del bolo, se observó una tendencia al incremento en el valor de Ang-2 en el grupo que recibió soluciones no balanceadas con respecto al grupo que recibió soluciones balanceadas ($p = 0.40$).

En este sentido, en los pacientes que recibieron soluciones balanceadas se observó un descenso en un 13% a las 6 horas desde su nivel basal ($p = 0.57$). En el grupo de no balanceadas, se observó un empeoramiento del 35% (11.15 ng/mL vs 14.95 ng/mL; $p = 0.20$) frente a su nivel basal.

Por otra parte, el nivel de Ang-2 en los dos grupos de soluciones no se ve alterado según la severidad de la sepsis ($p = 0.38$), escala PIM-2 ($p = 0.42$), ni con el uso de infusiones de albúmina ($p = 0.43$). Sin embargo, se observó una correlación leve entre los niveles de angiopoietina-2 a las 6 horas y el nivel de PBR en los dos grupos ($\rho = 0.23$; $p = 0.05$). De manera específica, en el grupo que recibió SSN, cuando se ajustó el grado de daño del glicocálix al flujo sanguíneo que llega a los capilares (PBR ajustado al flujo capilar), se observó que la angiopoietina-2 se correlaciona moderadamente con el daño del glicocálix endotelial ($\rho = 0.4$; $p < 0.05$). En otras palabras, en el grupo que recibió SSN entre mayor sea el daño del glicocálix endotelial, existe evidencia de un mayor incremento en la permeabilidad capilar, documentado por elevación de la Ang-2.

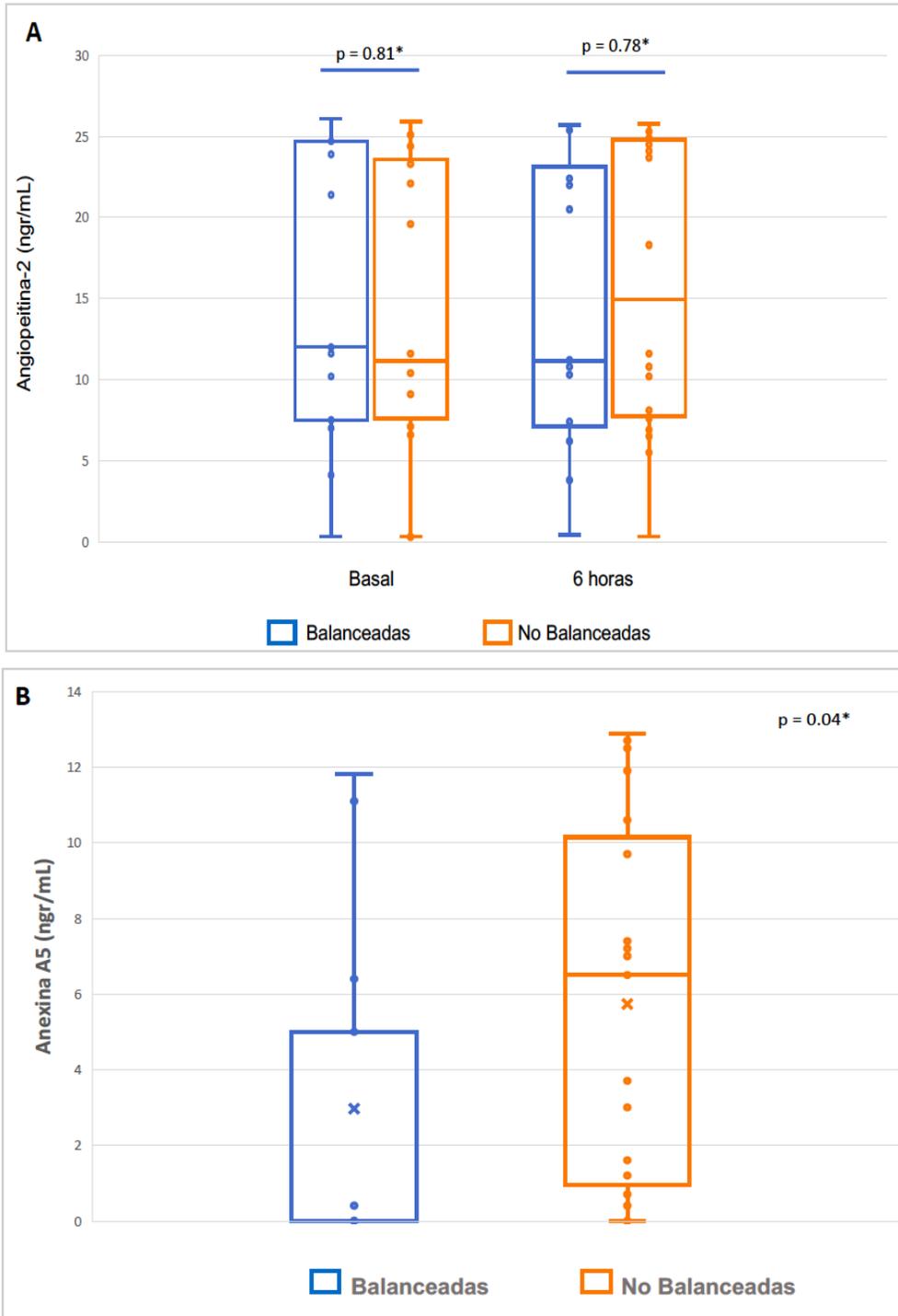


Figura 15. Niveles de biomarcadores de permeabilidad y apoptosis. A. Nivel de Angiotensina-2 en los dos momentos de evaluación según el tipo de solución utilizada. Se observa una tendencia a estar más elevada en el grupo de soluciones no balanceadas a las 6 horas. *Test U de Mann Whitney. B. Niveles de anexina a las 6 horas del bolo de soluciones balanceadas y no balanceadas. Se observa un nivel más alto en el grupo de soluciones no balanceadas.

De la misma manera, observamos que la angiotensina-2 tuvo una correlación moderada con el nivel de creatinina ($\rho=0.47$; $p = 0.02$) y una correlación negativa con el nivel de albúmina sérica ($\rho= (-) 0.34$; $p = 0.05$). Sin embargo, los niveles de la Ang-2 no se encontraron asociados con el nivel de PCR ($p = 0.81$), PCT ($p = 0.78$), PELOD ($p = 0.5$), lactato ($p = 0.6$), ni glucemia ($p = 0.5$). Tampoco se encontró asociación entre el nivel del biomarcador Ang-2 y la mortalidad ($p = 0.83$).

Al estimar la asociación entre la ang-2 y biomarcadores que evalúan la macrocirculación como la saturación venosa de O_2 , no se encontró asociación entre estas dos variables, ni en la línea basal ($p=0.78$) ni a las 6 horas de administrado el cristaloides ($p=0.67$). Por el contrario, con variables que miden de forma indirecta la microcirculación, como el delta de CO_2 (diferencia entre CO_2 venoso y arterial - $D CO_2$), encontramos que un valor anormal (i.e. mayor a 6) se asoció a niveles elevados de Ang-2 ($p = 0.03$). De manera interesante, si los pacientes recibían infusión de albúmina, existía menos riesgo de tener alteración en la permeabilidad vascular (Ang-2) y en la microcirculación evaluada con el $D CO_2$ (18.2% vs 62.5%; ORa 0.18: IC95% 0.05-0.64; $p = 0.05$).

Con respecto a la anexina A5, un biomarcador de muerte celular programada (i.e. apoptosis), se realizó una medición a las 6 horas de administración de los bolos de cristaloides en 36 pacientes (17 del grupo de balanceadas y 19 en el grupo de no balanceadas) (Figura 15B). No se realizó medición en todos los pacientes por no disponibilidad de kit de medición para todos. Encontramos que el grupo de soluciones balanceadas tuvo una mediana de 0.10 ng/ml (RIQ 0.0 - 6.4) y el grupo de soluciones no balanceadas una mediana de 6.5 ng/mL (RIQ 0.7 – 10.6) ($p = 0.04$). El riesgo de encontrar este biomarcador alterado a las 6 horas de recibir bolos de cristaloides fue mucho más alto con el grupo de soluciones no balanceadas (RR 7.61 IC 95% 1.59 – 36.48; $p<0.01$) con respecto a los pacientes que recibieron solución balanceadas.

De manera particular, en el grupo al que se le administró un bolo de soluciones no balanceadas, no se observó asociación entre tener una alteración en los valores de anexina A5 y el PBR ($p = 0.21$), sindecano ($p = 0.91$), angiotensina – 2 ($p = 0.19$) y lactato ($p=0.31$). No obstante, encontramos que otros biomarcadores menos específicos de daño en la microcirculación si se asociaban con los resultados observados en la anexina A5. De manera puntual, el tener un Delta de CO_2 normal (menor a 6) se asocia a un menor riesgo de encontrar alterada la anexina A5 (RR 0.57: IC 95% 0.30-0.99; $p = 0.05$).

8.4 Objetivo 4

*Estimar la asociación entre el **cambio de la integridad del glicocálix**, según el tipo de **reanimación hídrica instaurada**, y los **desenlaces clínicos de interés** (i.e. estado ácido base, función renal, lactato y alteraciones hidroelectrolíticas y) en niños con sepsis.*

Con respecto a la presencia de acidosis metabólica, en la línea de base no se observó diferencias en su frecuencia entre el grupo que recibió soluciones balanceadas y aquel al que se le administraron soluciones no balanceadas (25% vs 44%; $p = 0.11$). No obstante, a las 2 horas de administrado el bolo se observó una mayor frecuencia de acidosis metabólica en el grupo que recibió soluciones no balanceadas frente al de soluciones balanceadas (47% vs 22%: RR 1.47 IC95% 1.03-2.13; $p = 0.03$). Esta mayor frecuencia se mantuvo a las 6 horas (41% vs 18%: RR 1.38 IC 95% 1.01 – 1.92; $p = 0.05$) y a las 24 horas (29% vs 9%: RR 1.29 IC95% 1.01 – 1.64; $p = 0.04$) (Figura 16).

Además, en los pacientes con acidosis metabólica se observó mayor alteración del glicocálix endotelial, documentado por biomarcador imagenológico y plasmático. A las 6 horas de administrado los bolos, el grupo que presentó acidosis metabólica tenía más elevado el PBR (2.275 vs 2.124; Dif medias 0.150; $p=0.02$) y mayor riesgo de tener un nivel superior a 80 $\mu\text{g/mL}$ de sindecano-1 (RR 4.88: IC95% 1.23 – 28.08; $p = 0.05$). (Figura 17 A, B).

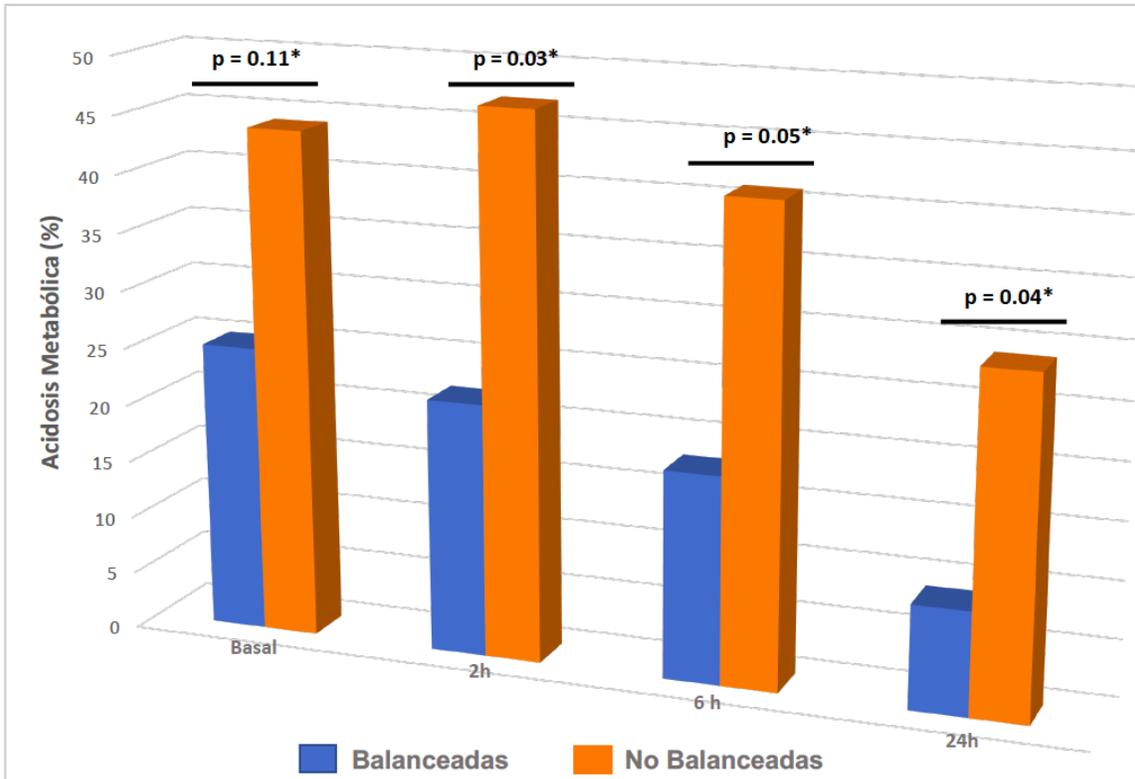


Figura 16. Frecuencia de acidosis metabólica de acuerdo con el tipo de solución. Se observa que la acidosis metabólica fue mucho más frecuente en el grupo de pacientes que recibió soluciones no balanceadas como se describe en el texto. *Test exacto de Fisher.

También encontramos mayor riesgo de presentar lesión renal aguda en el grupo de soluciones no balanceadas a las seis horas de su administración (RR 1.7: IC95% 1.12-3.18; $p = 0.05$) con respecto a las soluciones balanceadas. Esto es concordante con la mayor presencia de acidosis metabólica en este grupo al momento de la medición. De la misma manera, se observó hipercloremia de manera más frecuentemente en el grupo de soluciones no balanceadas (25% vs 6%; $p = 0.04$). Esta asociación de acidosis metabólica hiperclorémica con lesión renal aguda ha sido descrita previamente como causa de lesión renal aguda en quienes utilizan soluciones no balanceadas.

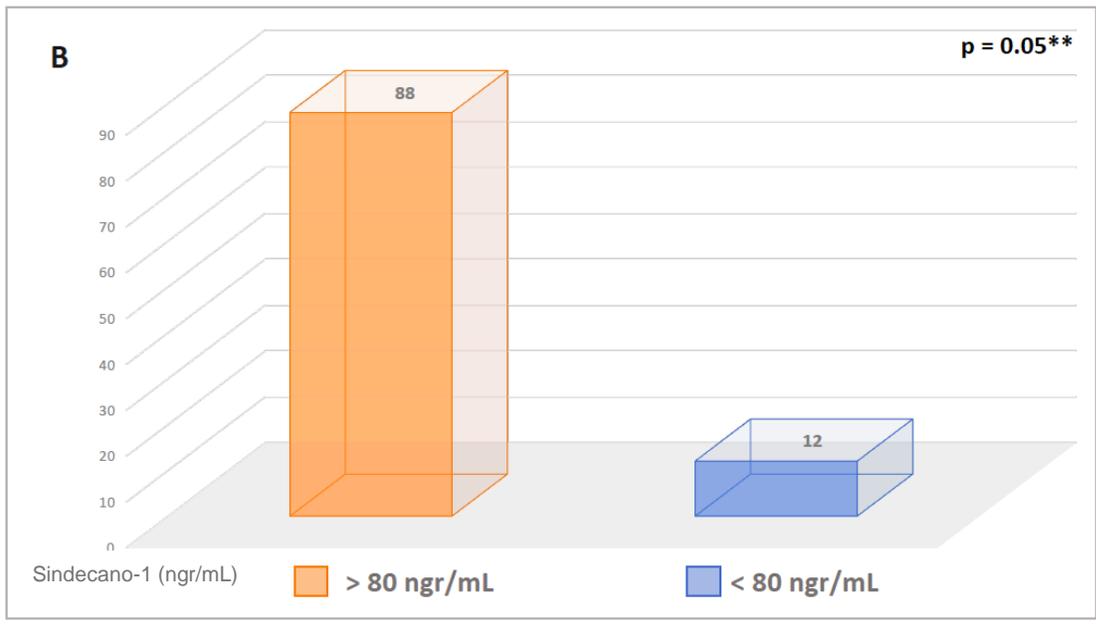
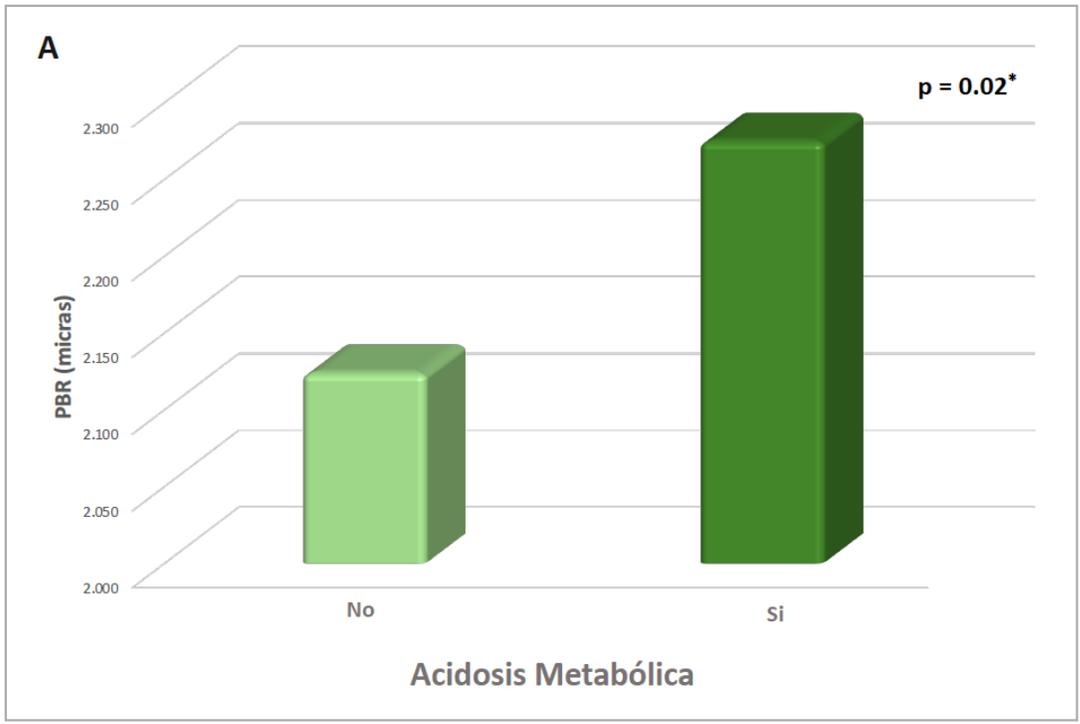


Figura. 17. Alteraciones del glicocáliz endotelial en los niños con acidosis metabólica. A. Nivel de PBR y su asociación con la presencia de acidosis metabólica. B. Frecuencia de nivel de Sindecano-1 en el grupo con acidosis metabólica. *T-Student grupos independientes **Test de Chi2 de Pearson.

En este sentido, el grupo de pacientes que cursaron con hipercloremia tenía un PBR superior con respecto al grupo con valor de cloro normal (2.312 vs 2.138; Dif medias 0.173; $p = 0.04$) sugiriendo mayor daño del glicocáliz endotelial en este grupo. Esto fue concordante con alteración también del glicocáliz medido con biomarcador plasmático. Es decir, se observó mayor alteración del sindecano-1 en el grupo con hipercloremia frente al grupo con normocloremia (123.35 [RIQ 61.16-165.24] vs 105.92 [74.42 – 640.81]; $p = 0.05$) (Figura 18 A,B).

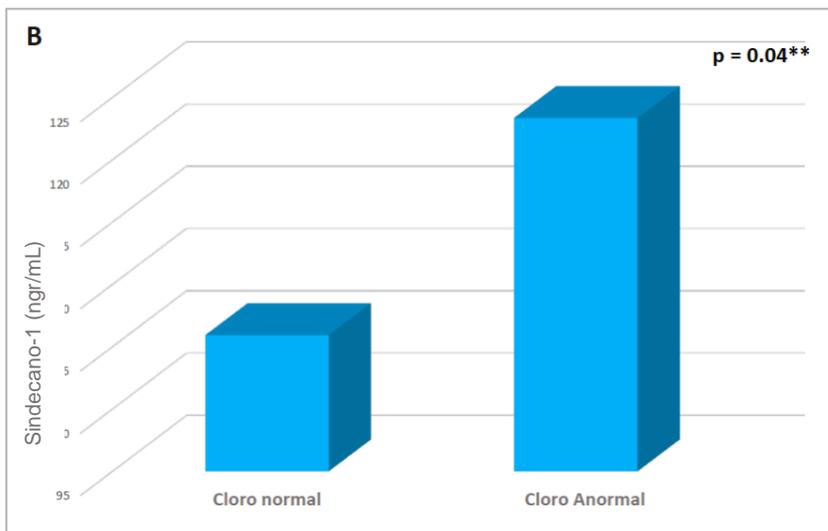
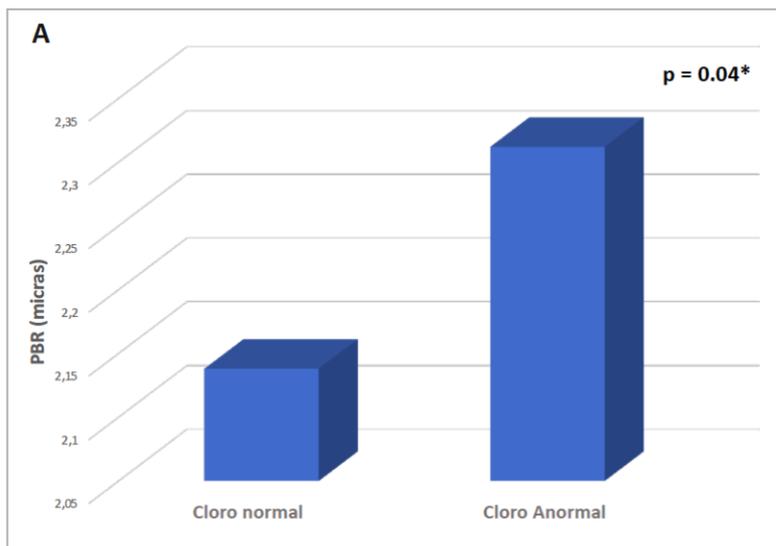


Figura. 18. Alteraciones del glicocáliz endotelial en los niños con Hipercloremia. A. Nivel de PBR y su asociación con alteración del cloro. B. Nivel de Sindecano-1 y su asociación con alteración del cloro sérico. * T-Student grupos independientes *Test U Mann Whitney.

De manera interesante, encontramos que existe una correlación negativa débil entre el nivel de albúmina sérica y el PBR en la línea basal ($r = (-) 0.23$; $p = 0.08$), negativa moderada a las 2 horas ($r = (-) 0.35$; $p = 0.01$), negativo débil a las 6 horas ($r = (-) 0.23$; $p = 0.05$), y negativo débil las 24 horas ($r = (-) 0.25$; $p = 0.05$) luego de administrados los cristaloides. (Figura 19). En otras palabras, se observó una relación inversa entre el nivel de albúmina sérica y mayor degradación del glicocálix en todos los tiempos, siendo más marcado a las 2 horas y 24 horas tras la administración de cristaloides (Figura 19).

De hecho, encontramos la línea basal que el 84% de los pacientes que tienen un nivel de albúmina anormal (menor a 3 g/dL) evidencian un PBR alterado (RR 2.73; IC95% 0,76 – 9,82; $p = 0.146$). Luego de 2 horas de administrado el bolo de cristaloides, el 88% de los pacientes con nivel de albúmina bajo evidencian daño del glicocálix endotelial (RR 5.5; IC 95% 1.38 – 21.85; $p = 0.01$). A las 6 horas, el 72% (RR 1.03 IC95% 0.33-3.2; $p=1.00$); mientras que a las 24 horas, el 96% de los niños que tienen un nivel de albúmina bajo tienen alterado el glicocálix endotelial (RR 7.11: 1.34-61.07; $p = 0.04$).

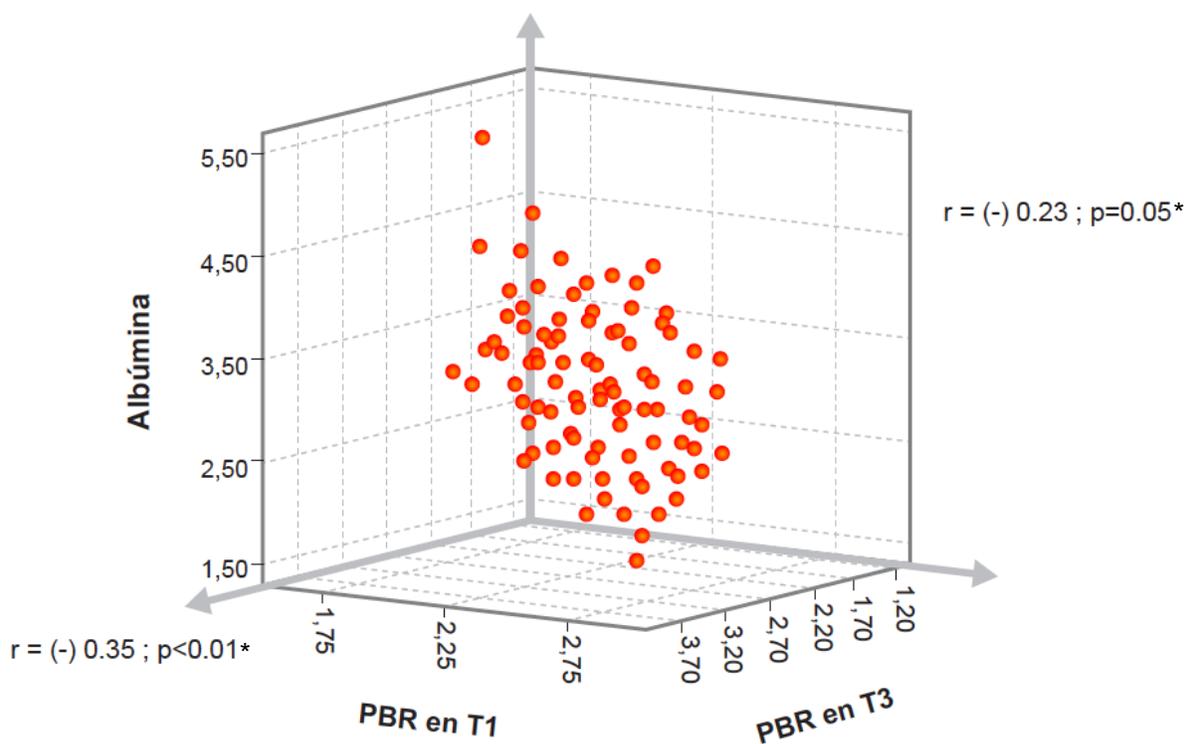


Figura 19. Correlación entre el nivel de albúmina y el daño de glicocálix endotelial medido con videomicroscopía a las 2 horas (T1) y 24 horas (T3) luego de administrar cristaloides. PBR: región límite perfundida. *Correlación de Pearson

Cuando se consideró un nivel de albúmina menor a 2.5 gr/dL como anormal, se encontró que en la línea de base, los niños que tenían hipoalbuminemia tenían más riesgo de presentar daño del glicocálix medido con videomicroscopía (OR 1.44; IC95% 1.21 – 1.73; $p=0.05$).

De manera interesante, observamos que existía una tendencia a mayor alteración del sindecano-1 en los pacientes con mayor respuesta inflamatoria e hipoalbuminemia. En este sentido, el 100% de los pacientes con ferritina mayor a 500 $\mu\text{g/dL}$ y albúmina sérica baja cursaron con sindecano-1 elevado, aunque sin significancia estadística (ORa 1.18; IC95% 0.92 – 1.58; $p = 0.11$). Sin embargo, en este grupo se identificó que el 71% de los niños que recibieron infusión de albúmina tenían elevados los niveles del sindecano-1 y la ferritina, frente al 100% de los pacientes que no recibieron infusión de albúmina (ORa 0.71 IC95% 0.45-1.00; $p = 0.05$).

Con respecto a la asociación entre las alteraciones del glicocálix endotelial con otros biomarcadores de daño de la microcirculación encontramos una correlación moderada positiva entre el Delta de CO_2 (ΔCO_2) y el PBR en la línea basal ($r=0.31$; $p = 0.03$). Sin embargo, no se observó asociación entre el ΔCO_2 con otros biomarcadores de daño en la microcirculación como el lactato ($p = 0.9$) ni con el sindecano-1 ($p = 0.63$). Tampoco el lactato se asoció a alteración en el valor de PBR ($p = 0.16$) posiblemente porque se ha considerado siempre un indicador muy tardío de la perfusión tisular que se ve afectado por muchas variables de macrocirculación.

También estimamos la asociación entre la evidencia de microtrombosis/fibrinólisis con el dímero D y alteraciones en el glicocálix endotelial. Se encontró que luego de la administración de los bolos de cristaloides existía correlación positiva entre el nivel de PBR y un valor de dímero D mayor a 1.5 ng/mL (más de 3 veces el valor normal) ($\rho = 0.54$; $p = 0.05$). Esta correlación aumenta cuando se ajusta la degradación del glicocálix al flujo sanguíneo del capilar ($\rho = 0.65$; $p = 0.03$).

En la muestra estudiada, 6 pacientes (9%) tenían prueba positiva para SARS-CoV-2 con RT-PCR y 3 (4,5%) pacientes cumplían criterios para el Síndrome Inflamatorio Multisistémico en Niños (MIS-C) asociado a COVID-19. El 100% de los niños con infección por SARS-CoV2 tuvo neumonía, falla respiratoria y síndrome de dificultad respiratoria agudo (SDRA). Se encontró que los niños con MIS-C tenían mayor riesgo de degradación del glicocálix, con respecto a los niños con neumonía por SARS-CoV-2 (RR 2.5 IC95% 1.20-7.31; $p=0.05$) al ser evaluados con videomicroscopía sublingual (Figura 20).

Con respecto al daño del glicocálix y su asociación con escalas de falla orgánica múltiple en UCIP, no encontramos asociación entre un PBR aumentado (mayor a 2 μm) y la escala de mortalidad de PELOD-2 ($p = 0.70$), PRISM-III ($p = 0.35$), PIM-2 ($p = 0.22$) en la línea basal de los pacientes. Tampoco se observó esta asociación con el sindecano-1 en la línea basal con PELOD-2 ($p=0.49$), PRISM-III ($p=0.98$) ni PIM-2 ($p=0.80$).

De toda la población estudiada, se presentó muerte en el 6% de los casos (4/66). A este respecto, a pesar de no observar asociación entre el nivel de PBR y las escalas usadas para predecir mortalidad en UCIP, se observó que los pacientes que murieron tenían un nivel de PBR superior con respecto a los niños que sobrevivieron (2.342 DS 0.09 vs 2.180 DS 0.28; Dif medias 0.162; $p = 0.03$) (Figura 21).

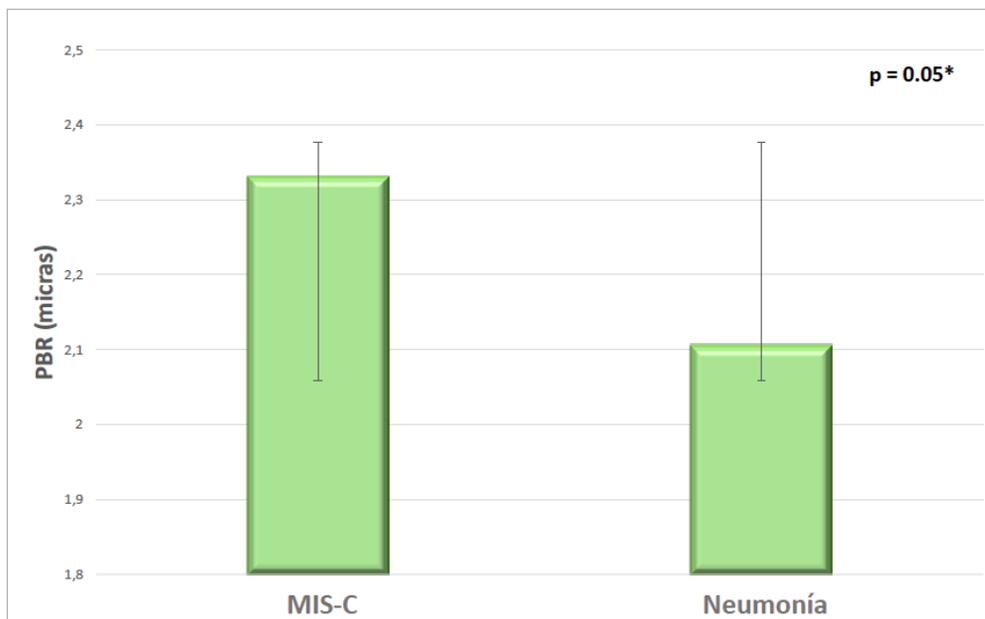


Figura 20. Nivel de PBR en niños con infección por SARS-CoV-2. MIS-C: síndrome inflamatorio multisistémico asociado a covid-19. PBR: región límite perfundida. *T-Student muestras independientes

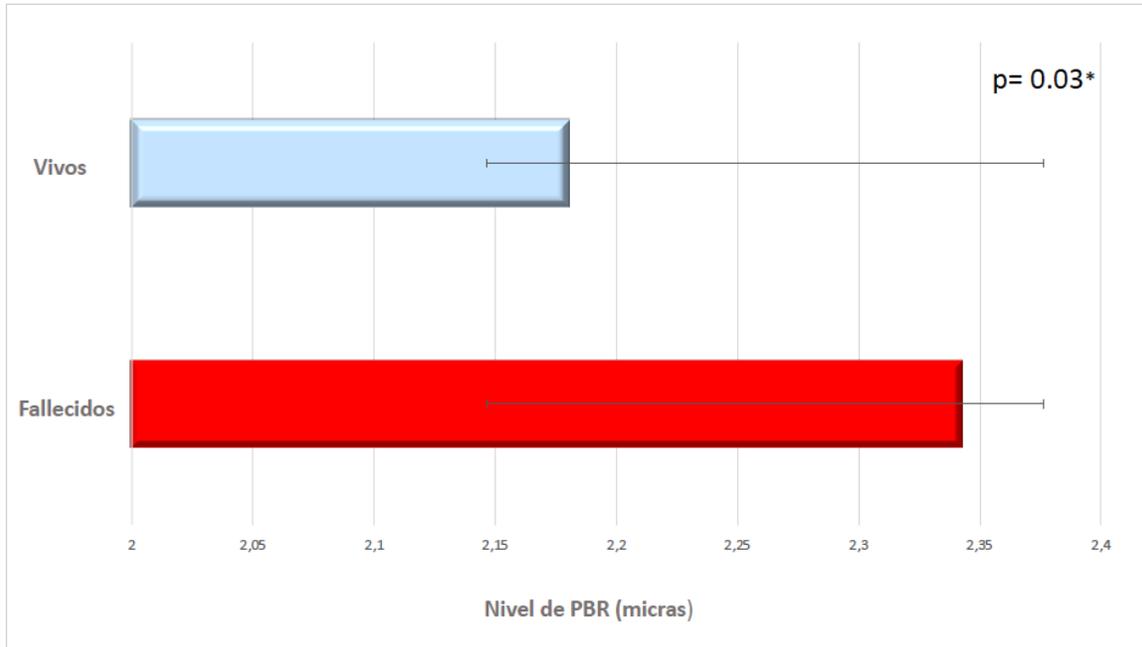


Figura 21. Nivel de PBR en la línea de base de la población estudiada según mortalidad.

*Test T-Student muestras independientes

8.5 Objetivo 5

Explorar un modelo multivariado, controlando factores de confusión, que permita establecer la relación entre el tipo de cristaloides utilizado y el daño del glicocálix endotelial.

Inicialmente, ya que en la línea de base de comparación solo se observó significancia estadística para una mediana de nivel sérico de lactato, la cual fue más alta en el grupo de soluciones balanceadas frente al grupo de no balanceadas (1.54 mmol/L vs 1.17 mmol/L; $p=0.02$), se quiso determinar si esta podría ser un factor de confusión frente al valor de PBR en la medición basal. No se encontró que el valor del ORa entre la solución no balanceada y la solución balanceada, ajustado al valor de lactato sérico, tuviera diferencia mayor al 10% frente al ORc, de manera que pudiera sugerir que este sea un factor de confusión para identificar el riesgo de daño del glicocálix endotelial (0.69 vs 0.70; $p = 0.12$).

Por otro lado, para establecer si la exposición a bolos de cristaloides (balanceadas vs no balanceadas) explica las alteraciones observadas en el glicocálix endotelial evaluado con el PBR (mayor o menor a 2 μm) a las 6 horas de administrado el bolo, se realizó una

regresión logística binaria. Inicialmente, se identificaron los posibles factores de confusión por plausibilidad biológica (criterio de Kleinbaum) y teniendo en cuenta los criterios de Hosmer-Lemeshow.

En este orden de ideas, luego de realizar en análisis bivariado, se realizó la prueba de Tarone y la estimación de razón de ventajas de Mantel y Haenszel identificando como factores de confusión el score vasoactivo (VIS), con un aumento de más del 10% en el ORc frente al ORa pero con igual sentido (4.4 vs 11.1). A pesar de la significancia estadística en el análisis bivariado, la hipoalbuminemia no se identificó como un factor de confusión. Adicionalmente, por plausibilidad biológica se consideró al riesgo de mortalidad basal, calculado con la escala PIM-2, como un factor de confusión.

Posteriormente, para el modelo de retención de variables se empleó el método Backward y se usó el estadístico de Wald para saber si el tipo de cristaloides influye sobre la alteración del glicocálix endotelial. En este sentido, el modelo fue evaluado con las pruebas de bondad de ajuste, específicamente con la prueba de Hosmer-Lemeshow, la cual mostró buen ajuste del modelo ($p = 0.32$). El 25% del cambio en el glicocálix endotelial, según el modelo, es explicado por el tipo de solución utilizada (R^2). Finalmente, la capacidad predictiva del modelo se evaluó con la curva ROC que indicó un AUC de 0.71 (IC95% 0.62-0.79). (Tabla 11).

Se encontró que el uso de soluciones balanceadas representa un menor riesgo de daño del glicocálix endotelial (ORa 0,23: IC95% 0.06-0.82; $p = 0.024$), luego de 6 horas de ser administradas, con respecto a las soluciones no balanceadas. Esto, tras controlar por el score vasoactivo y el riesgo de mortalidad basal calculado con la escala PIM-2.

Tabla 11. Análisis Multivariado de alteración del glicocálix según tipo de solución utilizada*

Variable	Error Estándar	Wald	Sig	Exp (B)	IC 95%
Balanceado vs No balanceado	0.665	5.098	0.024	0.223	0.06-0.82
Score Vasoactivo	0.23	2.178	0.140	0.966	0.92-1.01

*Regresión logística binaria controlando score vasoactivo, PIM-2.

Adicionalmente, se identificó como variable de interacción entre la alteración del glicocálix y el tipo de cristaloides utilizado el recibir de manera simultánea infusiones de albúmina. Es decir, los pacientes que reciben bolos de cristaloides y están recibiendo infusión de albúmina al 20%, tienen menos riesgo de presentar daño del glicocálix endotelial (ORa 0.56: IC 95% 0.31-1.00; $p < 0.001$) con respecto al grupo que no está recibiendo infusiones de albúmina.

9. DISCUSIÓN

En esta investigación documentamos por primera vez en la literatura, a través de la medición de biomarcadores imagenológicos y plasmáticos, que existe una alteración importante en la integridad del glicocálix endotelial en niños con sepsis. De la misma manera, se observó un riesgo adicional de degradación del glicocálix en estos niños, cuando se les administra reanimación hídrica con cristaloides no balanceados comparados con las soluciones balanceadas. Se encontró que el mayor daño del glicocálix se alcanza a las seis horas tras la administración de las soluciones no balanceadas. Este pico coincide con una mayor presencia de acidosis metabólica hiperclorémica e inicio de muerte apoptótica, en dicho momento de medición. En este mismo sentido, observamos que los niños con sepsis tienen una elevación 10 veces superior en los niveles de biomarcadores de aumento de la permeabilidad vascular principalmente a las seis horas de administrar soluciones no balanceadas. Luego de controlar factores de confusión, se encontró que el uso de soluciones balanceadas para realizar reanimación hídrica en niños con sepsis disminuye cerca de un 77% el riesgo de degradación del glicocálix endotelial, cuando se comparan con las soluciones no balanceadas.

Este daño del glicocálix en pacientes sépticos ha sido descrito en modelos experimentales en animales y, más recientemente, en población adulta (87-90). Steppan y cols (87), en una muestra de 104 pacientes con sepsis (media de 69 años), encontraron una elevación importante en los niveles de sindecano-1, comparado con un grupo de 18 adultos sanos (160 ng/mL vs 20 ng/mL; $p < 0.01$). Adicionalmente, encontró una elevación significativa del sindecano-1 en pacientes en posoperatorio de cirugía abdominal, aunque dicha elevación fue inferior a la encontrada en los adultos con sepsis (50.5 ng/mL vs 160 ng/mL). Este grupo también observó que los niveles plasmáticos de sindecano-1 se correlacionaban con el aumento en los niveles plasmáticos de biomarcadores inflamatorios (i.e. IL-6, ICAM-1, VCAM-1), en el grupo con sepsis.

En este mismo sentido, Rovas y cols (88) evaluaron la degradación del glicocálix endotelial, empleando videomicroscopía sublingual, en 30 adultos con sepsis (mediana 67 años) y en 10 sujetos sanos. Los autores encontraron mayor daño del glicocálix en los pacientes con sepsis (PBR 2.34 vs 2.04 μm) y, adicionalmente, niveles plasmáticos de sindecano-1 (204.5 ng/mL vs 21.3 ng/mL) más elevados con respecto a los controles sanos. Hippeenstel *et al*, por su parte, en 156 adultos con sepsis han obtenido hallazgos similares (90). En efecto, al medir los niveles de heparán sulfato, como biomarcador de daño del glicocálix endotelial,

encontraron asociación entre la presencia de hipervolemia y aumento de los niveles séricos de este biomarcador. Además, por cada litro de líquidos administrados existía aumento de más del doble del nivel basal de heparán sulfato.

Estos hallazgos en población adulta son consistentes con lo que encontramos en nuestra investigación que describe, por primera vez, la degradación del glicocálix endotelial en población pediátrica con sepsis y choque séptico. Antes de la administración de bolos de cristaloides, tanto las mediciones del videomicroscopio (PBR 2.190, DS±0.27) como de los biomarcadores plasmáticos de degradación del glicocálix (sindecano-1 y endocan) se encontraron alterados. Este daño del glicocálix endotelial en individuos con sepsis tiene varios mecanismos fisiopatológicos que lo explican.

En primer lugar, varios estudios preclínicos han encontrado asociación entre la elevación de algunas citoquinas, como el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α), interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10), con la elevación de biomarcadores de degradación del glicocálix. En un modelo animal de sepsis, Schmidt y cols encontraron que el FNT α y su receptor eran necesarios para la degradación del glicocálix, y observaron que este daño era mediado por la liberación masiva de heparanasa inducida por la activación de macrófagos en el modelo de sepsis (91). De la misma manera, más recientemente, se han investigado otros mediadores del daño del glicocálix en modelos preclínicos de sepsis. Entre ellos, la angiopoietina 2 (Ang-2), una proteína secretada por las células endoteliales en el contexto de una respuesta inflamatoria sistémica, quien actúa como un antagonista intrínseco de la angiopoietina-1 (Ang-1). Esta Ang-2 actúa a través del receptor TIE2, evitando la respuesta anti-inflamatoria. Lukasz y cols, en células endoteliales de cordón umbilical de ratón, encontraron que el tratamiento con Ang-2 causa una degradación rápida del glicocálix endotelial (92). En nuestra investigación, encontramos que los niveles basales de Ang-2 estaban elevados al menos 10 veces con relación a los valores normales, tanto en el grupo que recibió soluciones balanceadas como en el grupo al que se le administraron soluciones no balanceadas. Estos hallazgos en nuestros pacientes apoyarían la evidencia encontrada en modelos preclínicos, en los cuales el daño de glicocálix podría estar mediado por la Ang-2.

Por otra parte, la pérdida de la barrera del glicocálix endotelial asociada a sepsis en estos modelos preclínicos explica el compromiso de la microcirculación en estos pacientes. El daño endotelial y de su glicocálix lleva a magnificación de la respuesta inflamatoria, pérdida de las uniones intercelulares endoteliales y del fenotipo antiadherente del endotelio vascular, favoreciendo la microtrombosis y un aumento importante de la permeabilidad

vascular. Estas consecuencias del daño del glicocálix podrían explicar, al menos en parte, los hallazgos contradictorios de estudios observacionales y ensayos clínicos cuando comparan el uso de soluciones no balanceadas y balanceadas para la reanimación hídrica en pacientes con sepsis.

En efecto, las investigaciones que han evaluado el uso de bolos de cristaloides para pacientes con sepsis y choque séptico han arrojado resultados que no son consistentes. La reanimación hídrica es recomendada por la campaña *sobreviviendo a la sepsis* de la Society of Critical Care Medicine (SCCM), desde hace más de 20 años (3,5,7). Esta busca, desde el punto de vista teórico, la estabilización del compromiso cardiovascular en pacientes con choque séptico (7). Dado esto, se estima que el 80% de los niños con sepsis reciben al menos un bolo de cristaloides en el transcurso de su condición (5). De hecho, se recomienda administrar hasta 60 ml/kg en los primeros 15 minutos cuando existe choque séptico. Pero, evidencia reciente ha encontrado una fuerte asociación entre exceso de bolos de cristaloides y mayor mortalidad con desarrollo de falla orgánica múltiple en niños con sepsis (93). Además del exceso de volumen, la composición de estos cristaloides también ha sido cuestionada. El estudio SMART, un ensayo clínico en 7942 adultos con sepsis, encontró mayor necesidad de terapia de remplazo renal, falla renal aguda y mortalidad con el uso de soluciones no balanceadas con respecto a las soluciones balanceadas (23). Sin embargo, Zampieri y cols publicaron el estudio BaSICS que comparó la SSN y el lactato de ringer para reanimación hídrica en una población de 10520 pacientes (media de 61 años) (24). Tras recibir un único bolo de 20 ml/kg, no se encontraron diferencias en la mortalidad a los 90 días, entre los dos grupos. La media de estancia hospitalaria fue de aprox. 14 días. Esta investigación ha sido cuestionada porque un solo bolo de cristaloides podría tener un efecto muy pequeño sobre desenlaces como la mortalidad, en pacientes que están en un estado tan críticos, que requieren múltiples intervenciones y se encuentran hospitalizados largos periodos de tiempo en terapia intensiva.

Tales resultados contradictorios en las investigaciones en población adulta concernientes a la reanimación hídrica también se han observado en la población pediátrica. Barhight y cols no encontraron diferencias en mortalidad, pero sí una mayor frecuencia de hipercloremia (15.4% vs 10.1%; $p = 0.05$) con el uso de soluciones no balanceadas en comparación a las soluciones balanceadas, en niños críticos con sepsis que requirieron reanimación hídrica (96). Fernández-Sarmiento y cols, en una publicación reciente realizada en un país de medianos ingresos, por el contrario, encontraron mayor riesgo de desarrollar lesión renal

aguda y necesidad de terapia de remplazo renal en los niños que recibían reanimación hídrica con soluciones no balanceadas al compararse con las balanceadas (25).

No se conoce la causa biológica que pueda explicar estas complicaciones con el uso de soluciones no balanceadas. Se ha considerado que podrían estar relacionadas con la presencia de acidosis metabólica y la hipercloremia inducidas por estas soluciones, como es el caso de la SSN (98-100). Sin embargo, no se conocía cuál puede ser la repercusión de estas alteraciones sobre la microcirculación. En nuestra investigación encontramos mayor pérdida de la integridad del glicocálix endotelial con el uso de la solución no balanceada comparada con la balanceada. Observamos que este efecto es máximo luego de seis horas de colocar el bolo de cristaloides y regresa a un valor cercano al basal posterior a las 24 horas de administración. Planteamos la hipótesis de que el efecto sobre el microambiente endotelial inducido por una solución ácida, como aquellas de tipo no balanceadas (pH 5.4), afecta la integridad del endotelio y favorece su degradación. Este planteamiento se refuerza por el hecho de que, a las seis horas post-administración del bolo, encontramos un menor grosor del glicocálix, así como una persistencia en la elevación del sindecano-1, para el caso de las soluciones no balanceadas. Por el contrario, con el uso de soluciones balanceadas, los niveles del sindecano-1 se redujeron más de un 10% con relación a su nivel basal, a las 6 horas posteriores a la administración.

Adicionalmente, creemos que nuestra hipótesis se ve reforzada por el hecho de encontrar una mayor frecuencia de acidosis metabólica (AM) en el grupo que recibió soluciones no balanceadas. De manera específica, los niños que tenían acidemia exhibieron significativamente un PBR más elevado y, por lo tanto, una mayor lesión del glicocálix endotelial. Es sabido que la AM altera la función de todas las células del organismo y se asocia a mayor mortalidad en sepsis, pero no se había descrito sus efectos sobre la integridad endotelial y de su glicocálix (101,102). De hecho, en los pacientes que reciben soluciones no balanceadas se ha encontrado AM hiperclorémica más frecuentemente (99), como se observó en nuestra investigación. De manera específica, se ha descrito que la hipercloremia induce vasoconstricción de la arteria renal aferente y se asocia a mayor frecuencia de lesión renal aguda y mortalidad (100). Nosotros encontramos que en aquellos niños que exhibían hipercloremia luego de la administración de los bolos de cristaloides, también evidenciaban mayor degradación del glicocálix endotelial, documentado con biomarcador imagenológico.

Si se daña el glicocálix en presencia de acidosis metabólica e hipercloremia, se favorece el aumento de la permeabilidad vascular, edema intersticial y compromiso de la perfusión

renal, con la consecuente lesión renal aguda descrita con el uso de soluciones no balanceadas. Esta hipótesis se refuerza con los otros biomarcadores que medimos en nuestra investigación. Nuestros pacientes tenían un nivel basal 10 veces superior de Ang-2 con respecto a los niveles normales, como ya se describió. Luego de seis horas de la administración del bolo de cristaloides, se evidenció un aumento del 35% de la Ang-2 en el grupo que recibió soluciones no balanceadas y de un 13% en el grupo que recibió soluciones balanceadas. Es decir, las soluciones no balanceadas, además de inducir más frecuentemente acidosis metabólica hiperclorémica, también favorecerían el aumento de la permeabilidad vascular documentada con este biomarcador plasmático y, por lo tanto, favorecería el compromiso de la perfusión renal en estos pacientes. De hecho, a las seis horas de administración de cristaloides no balanceados, encontramos mayor riesgo de presentar lesión renal aguda en este grupo (RR 1.7: IC95% 1.12-3.18; $p = 0.05$), comparado con aquel que recibió las soluciones balanceadas. En este mismo sentido, encontramos que los pacientes que recibieron solución no balanceada tenían elevación significativa del biomarcador de apoptosis (i.e. anexina A5) (RR 7.61: IC 95% 1.59 – 36.48; $p < 0.01$).

Con nuestros hallazgos, desde una perspectiva de la pérdida de la integridad endotelial y del glicocálix, logramos profundizar en el entendimiento de las consecuencias clínicas de la acidosis metabólica hiperclorémica y la mayor frecuencia de falla renal aguda en niños con sepsis. Estas consecuencias han sido descritas en ensayos clínicos y estudios observacionales en adultos y niños con sepsis, pero no conocíamos la posible explicación biológica a estos fenómenos.

Otro hallazgo interesante de nuestra investigación fue el hecho de que la mayoría de la evidencia de degradación del glicocálix endotelial ocurrió tras seis horas de la administración de los bolos de cristaloides no balanceados. En modelos preclínicos y en población adulta, se había considerado que, de acuerdo con las leyes de Starling del capilar, el tiempo que duran los cristaloides en el espacio intravascular en pacientes con ventilación mecánica, durante cirugía y con anestesia general, es de 4 a 8 horas (56,103-106). Luego de este tiempo, existe redistribución hídrica de los cristaloides, los cuales pasan del espacio intravascular al intersticial por cambio en la proporción de las fuerzas de la presión capilar hidrostática y la presión oncótica. Sin embargo, no se conocía el tiempo aproximado de duración de los cristaloides en el espacio intravascular en niños con sepsis.

Nuestros hallazgos serían consistentes con estas descripciones de la duración de los cristaloides en el espacio intravascular. A pesar del aumento de la permeabilidad vascular relacionada con la inflamación y observada en niños con sepsis, los efectos sobre el

glicocálix endotelial fueron máximos a las seis horas de ser administrados los cristaloides. Además, tras 24 horas de la administración de estos cristaloides, en nuestros pacientes observamos un regreso al nivel basal en los biomarcadores imagenológicos y plasmáticos de daño del glicocálix. No obstante, este nivel basal seguía siendo muy alto en la población estudiada.

Como se mencionó anteriormente, el descubrimiento del glicocálix endotelial y sus efectos en la dinámica de flujos vasculares y presión capilar, llevó a que la ley de Starling del capilar fuera replanteada (107-109). Ahora, los fisiólogos consideran que el espacio subglicocálix es fundamental en el equilibrio de tales fuerzas entre los espacios intravascular e intersticial (109). Además del glicocálix, la albúmina y la presión oncótica que esta genera resulta ser otro determinante importante del movimiento de fluidos a través del capilar. En modelos animales, se ha encontrado que si se elimina el 100% de la albúmina sérica el glicocálix endotelial se degrada por completo (110). En nuestra investigación, encontramos que existía una correlación inversa entre los niveles de albúmina sérica y el grosor del glicocálix documentado por la medición del PBR en videomicroscopía. El 84% de los pacientes que niveles séricos de albúmina inferiores a 3.0 g/dL exhibieron un PBR alterado. En otras palabras, a menor nivel de albúmina sérica mayor elevación del biomarcador imagenológico (PBR), indicando mayor daño del glicocálix.

Estos hallazgos tendrían implicaciones terapéuticas importantes. En condiciones normales, la albúmina de carga negativa se repele con los GAG sulfatados de carga negativa del glicocálix (111). Esto permite que las proteínas se mantengan en el espacio intravascular porque se repelen con los GAG de también carga negativa, manteniendo las proteínas en el espacio intravascular. Al perderse el glicocálix endotelial, como ocurre en los niños con sepsis, y de acuerdo a nuestros hallazgos, se perdería esta interacción entre endotelio, glicocálix y albúmina, lo que favorecería el aumento del paso de estas proteínas al espacio intersticial (112). La redistribución de la albúmina hacia este espacio aumenta la presión oncótica intersticial, con lo que se invierten las fuerzas de Starling, favoreciendo la salida de líquido del espacio intravascular al intersticial.

En ensayos clínicos de adultos con sepsis, se ha demostrado que sostener niveles séricos de albúmina por encima de 3.0 gr/dl mejora los balances hídricos en pacientes críticos, así como la macrocirculación, siendo esta conducta costo-efectiva (113-115). En nuestra investigación, tuvimos una pequeña proporción de pacientes que recibieron infusiones de albúmina al 20%, quienes evidenciaron un menor riesgo de daño del glicocálix endotelial (ORa 0.56; IC 95% 0.31-1.00; $p < 0.001$) con respecto al grupo que no la estaba recibiendo,

independientemente del tipo de cristaloides que fue administrado en la reanimación hídrica. Sin embargo, se necesita que se realicen ensayos clínicos que evalúen el efecto de un ambiente rico en albúmina en niños con sepsis y sus consecuencias clínicas.

Por otro lado, encontramos correlación moderada a alta entre el daño del glicocálix y la evidencia de microtrombosis vascular. Una de las funciones más importantes del endotelio y su glicocálix, en condiciones fisiológicas, es sostener una buena permeabilidad vascular y evitar la formación de trombos. Esto lo logra con la síntesis del inhibidor del factor tisular, la unión de un componente del glicocálix (heparán sulfato) con la antitrombina III, la síntesis de trombomodulina y, finalmente, por bloqueo de la interacción física entre las plaquetas y el colágeno subendotelial (116,117). En nuestra investigación, se documentó que existía una correlación moderada a alta entre una elevación de más de tres veces en el dímero D y un PBR alterado. El dímero D, como biomarcador de fibrinólisis, puede ser un buen indicador no específico de que se activó el sistema de la coagulación. Más como una expresión de microtrombosis que de macrotrombosis. No encontramos correlación entre la severidad de la inflamación medida con ferritina o proteína C reactiva y el nivel de dímero D o PBR. Esto podría indicar que la evidencia de daño del glicocálix endotelial y, por ende, la microtrombosis pueden ocurrir de manera temprana, antes de la elevación de biomarcadores de inflamación no específicos. Sin embargo, se requieren estudios que puedan confirmar esta hipótesis.

Nuestra investigación se desarrolló en la ciudad de Bogotá durante el segundo y tercer pico de la pandemia por COVID-19. Por tal razón, se incluyeron pacientes que cumplieran criterios de inclusión y que, adicionalmente, tenían infección por SARS-CoV-2 o el síndrome inflamatorio multisistémico por COVID-19 (MIS-C por covid-19). Un hallazgo interesante fue que los niños con MIS-C tenían más riesgo de degradación del glicocálix endotelial con respecto a los niños con neumonía por SARS-CoV-2 (RR 2.5 IC95% 1.20-7.31; $p=0.05$) al ser evaluados con videomicroscopía sublingual (77). Los procesos fisiopatológicos asociados al MIS-C aún no están claramente entendidos.

Recientemente, Consiglio y cols realizaron un análisis de las proteínas plasmáticas involucradas en la respuesta inmune e inflamatoria en pacientes con MIS-C por COVID-19, buscando entender las similitudes y diferencias entre MIS-C y enfermedad de Kawasaki (EK) (118). En los niños con EK se evidenció una respuesta hiperinflamatoria, mediada por IL-17A, con biomarcadores elevados de arteritis y enfermedad coronaria. En los niños con MIS-C, por el contrario, se encontraron autoanticuerpos contra una glicoproteína estructural del endotelio, denominada endogлина (deficiente en pacientes con telangiectasia

hemorrágica hereditaria) (119). Esta glicoproteína es necesaria para la integridad endotelial de las arterias y se expresa principalmente en el endotelio vascular y músculo cardíaco. Vella y cols. han encontrado hallazgos similares en niños hospitalizados con COVID-19 y MIS-C (120). Este grupo encontró que la respuesta inmune en el MIS-C fue más parecida al COVID-19 grave de adultos. Se observó activación aumentada de células T CD8+, incluyendo un subtipo de CD8+ con un “*perfil*” vascular, y expresión de CX3CR1 sugestivo de activación y daño endotelial. En nuestra investigación, reportamos por primera vez en la literatura científica, la evidencia de daño del endotelio y su glicocáliz en dos niños con MIS-C que fueron incluidos en nuestra investigación. Encontramos alterado el PBR y elevación muy importante del sindecano-1. Estos hallazgos contribuyen al conocimiento de la enfermedad y al entendimiento de sus alteraciones fisiopatológicas (77).

Finalmente, encontramos que los pacientes que fallecieron en nuestro estudio evidenciaron un mayor daño del glicocáliz endotelial, comparado con aquellos que sobrevivieron. Este hallazgo tiene plausibilidad biológica si consideramos que la activación endotelial y la degradación del glicocáliz son componentes fundamentales de la respuesta inflamatoria asociada a la infección. De hecho, dado nuestros hallazgos, consideramos que existe una relación bidireccional entre inflamación y daño endotelial. Es decir, a mayor respuesta inflamatoria mayor daño endotelial y a más activación endotelial mayor inflamación sistémica. De forma interesante, las escalas clínicas de severidad predictoras de uso rutinario en UCIP como el PIM-2 o el PELOD no tuvieron capacidad de discriminar los pacientes que fallecían ni los que tenían mayor degradación del glicocáliz endotelial.

10. LIMITACIONES

Consideramos que nuestra investigación tiene varias limitantes. En primer lugar, en algunos de nuestros hallazgos podríamos no haber encontrado significancia estadística debido a un error tipo II. Esto se debe a que los resultados presentados derivan de los pacientes recolectados hasta el 31 de julio del año en curso. Esto, pues la pandemia por COVID-19 retraso de manera importante nuestro cronograma por diferentes razones. No obstante, consideramos que, a pesar de esta dificultad, con los pacientes hasta ahora analizados se han obtenido hallazgos interesantes que muestran una tendencia en los dos grupos de cristaloides y con plausibilidad biológica.

Adicionalmente, no se midieron biomarcadores plasmáticos de daño del glicocálix endotelial y de aumento de permeabilidad vascular en todos los pacientes incluidos en el estudio. La razón fue fundamentalmente de índole económico. No teníamos disponibilidad de recursos para realizarlo en todos los pacientes. A pesar de la búsqueda activa de más recursos económicos para realizarle este biomarcadores plasmáticos a todos los pacientes, por diferentes motivos no obtuvimos estos recursos. La razón principal que nos argumentaban las diferentes entidades a quien fue solicitado eran relacionados con la crisis económica relacionada con la pandemia por Covid-19. No obstante, con las mediciones realizadas se observaron tendencias y diferencias estadísticas que tenían concordancia con las mediciones del videomicroscopio y con otros biomarcadores inflamatorios no específicos. En efecto, por razones de índole económico y limitación del presupuesto decidimos no realizar medición específica de citoquinas plasmáticas. El haberlas cuantificado, podría haber contribuido al mejor entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos que pueden ser activados con la degradación del glicocálix en el contexto de sepsis. Sin embargo, en un contexto inflamatorio sistémico, la medición de citoquinas puede ser influenciada por muchos factores de confusión, lo que convertiría esta medición en un desafío importante en su interpretación (121-124). Por lo tanto, para que las citoquinas fueran confiables deberían realizarse varias mediciones en el tiempo y esto aumentaría de manera significativa el presupuesto de la investigación.

De la misma manera consideramos que los datos aquí presentados corresponden a la experiencia de un único centro de referencia, al cual ingresan niños de alta complejidad. Esto podría sesgar los datos obtenidos. No obstante, quisimos controlar cualquier confusión relacionada con la severidad de la enfermedad desde el diseño con los criterios de inclusión y desde el análisis con el modelo multivariado que en efecto realizamos. A pesar de estos

factores posibles de confusión, encontramos hallazgos interesantes relacionados con el daño del glicocálix en estos pacientes que reciben reanimación hídrica con cristaloides. Finalmente solo se realizó seguimiento de los pacientes durante las primeras 24 horas, luego de la administración de los bolos de cristaloides. Posterior a este tiempo podrían ocurrir cambios en la condición clínica o severidad de la enfermedad, por lo que en próximos estudios se hace necesario considerar un seguimiento por más tiempo. De esta manera podría entenderse mejor la interacción entre las diferentes estrategias terapéuticas y el daño del glicocálix endotelial.

11. CONCLUSIONES

En niños críticos que requieren hospitalización en cuidados intensivos debido a sepsis, se observa pérdida importante de la integridad del glicocálix endotelial. Este daño del glicocálix empeora en los pacientes que reciben bolos de soluciones no balanceadas, alcanzando su punto de mayor degradación luego de seis horas de ser administrados tales cristaloides. Adicionalmente, los pacientes que reciben soluciones no balanceadas evidencian más frecuentemente acidosis metabólica hiperclorémica, la cual se asocia a una mayor pérdida del glicocálix endotelial, aumento de la permeabilidad vascular y muerte celular por apoptosis.

12. RECOMENDACIONES

Con nuestros hallazgos, recomendamos utilizar, preferiblemente, soluciones balanceadas en niños con sepsis que requieren reanimación hídrica con cristaloides. Sugerimos, por tanto, evitar la administración de soluciones no balanceadas para bolos de fluidos en sepsis, pues encontramos que se asociaron a un mayor daño del glicocálix endotelial. No obstante, en grupos particulares debe cada caso ser analizado por el médico tratante. También, recomendamos empezar a explorar la búsqueda del daño del glicocálix en sepsis con biomarcadores imagenológicos y plasmáticos a la cabecera del paciente y correlacionar estos hallazgos con los desenlaces clínicos observados.

13. APROPIACIÓN CIENTÍFICA DEL CONOCIMIENTO (IMPACTO CIENTÍFICO)

De manera interesante y por primera vez en la literatura científica, con esta investigación se ha documentado pérdida de la integridad del glicocálix endotelial en niños con sepsis. En efecto, aunque existían descripciones en modelos preclínicos y adultos, no se había descrito previamente el daño del glicocálix en estos niños. Esto consideramos los autores tiene implicaciones importantes:

a. Saber que el glicocálix en sepsis se encuentra lesionado, nos permite entender mejor las bases biológicas de esta enfermedad. Saber que, además de participar en la activación endotelial, el glicocálix juega un papel fundamental en los niños con sepsis en el control de la permeabilidad vascular, como lo encontramos en nuestro estudio, contribuye de manera importante al conocimiento científico de la fisiopatología de la sepsis. Esto tiene implicaciones importantes porque nos indica que debemos trabajar en identificar estrategias terapéuticas alternativas que ayuden a restaurar el glicocálix endotelial. Con nuestros hallazgos, esperaríamos que, al recuperar el glicocálix, se modulara la respuesta inflamatoria, mejorara la perfusión de órganos y se tuvieran consecuencias clínicas importantes mejorando los desenlaces de los pacientes.

b. Permite empezar a considerar un enfoque nuevo en las alteraciones de la circulación en sepsis. Nuestra forma tradicional de pensar se ha enfocado en la macrocirculación. Con nuestros hallazgos, hemos documentado que la microcirculación, el endotelio y su glicocálix, requieren ser restaurados y estabilizados para evitar la presencia de más inflamación y muerte celular. Este nuevo enfoque abre un camino prometedor frente a que los clínicos deberíamos integrar y fortalecer la medicina translacional, aplicando estos conceptos de las bases biológicas de las enfermedades para tomar conductas y decisiones terapéuticas. .

Otro hallazgo importante está relacionado con el objetivo principal de esta investigación. Documentamos que las soluciones no balanceadas se asociaban a mayor daño de la microcirculación, el endotelio y su glicocálix. Estos hallazgos tienen varias implicaciones:

a. Nos ayuda a documentar, por primera vez en la literatura, una explicación biológica más profunda y detallada de hallazgos clínicos en niños sépticos que reciben reanimación hídrica con soluciones no balanceadas. No conocíamos posibles explicaciones al daño renal, acidosis metabólica y otras consecuencias relacionadas con el uso de estas soluciones. Hasta ahora, la literatura solo había considerado que estaban relacionadas con la hipercloremia asociada al uso de SSN 0.9%. Con nuestros hallazgos, profundizamos en

este conocimiento estableciendo que también existe un mayor daño del endotelio y su glicocálix con el uso de estas soluciones.

b. Entendemos que las intervenciones médicas en sepsis pueden empeorar la respuesta inflamatoria y ser causa de desenlaces inadecuados. Perfeccionar nuestras intervenciones en términos de reanimación hídrica, no solo es útil para explicar los resultados de los ensayos clínicos, sino también para mejorar nuestra práctica diaria y hacer recomendaciones más racionales. En este sentido, las publicaciones derivadas de esta tesis han sido referenciadas por la Sociedad Latinoamericana de Cuidados Intensivos Pediátricos (SLACIP), las cuales han desarrollado guías para modificar la práctica clínica, recomendando el uso de soluciones balanceadas y desaconsejando el empleo de las soluciones no balanceadas. Con nuestros hallazgos, se ratifican estas recomendaciones de la SLACIP y se les encuentra una explicación biológica que fue realizada a la cabecera de los pacientes.

Otro hallazgo interesante estuvo relacionado con el hecho de que esta investigación se desarrolló durante la pandemia por COVID-19. Esto nos permitió incluir pacientes con esta enfermedad y que ingresaron a cuidado crítico. Con nuestros hallazgos, contribuimos en al entendimiento de esta infección por SARS-CoV2.

a. Como producto derivado de esta investigación, ya publicado, se describió por primera vez en la literatura el daño del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis con el síndrome inflamatorio multisistémico asociado a COVID-19 (MIS-C). Esta es la forma más grave de presentación de la infección por SARS-CoV2, que causa una mortalidad 10 veces más alta que la neumonía por COVID-19 en niños. Entender el rol del endotelio y su glicocálix abre un camino interesante de investigación para la búsqueda de alternativas terapéuticas para esta grave enfermedad.

b. Se documentó que los niños con neumonía por SARS-CoV2 no evidenciaban un daño importante en el endotelio, lo que no se había descrito en la literatura. También este hallazgo crea una línea de investigación que debe ser desarrollada para profundizar en el conocimiento de esta enfermedad.

Finalmente, nuestros hallazgos también están relacionados con evidenciar que algunos medicamentos pueden mejorar y estabilizar el glicocálix endotelial en sepsis. No sólo documentamos su daño, sino también encontramos alternativas terapéuticas que pueden llegar a ser útiles para facilitar su recuperación o menor daño. Es el caso de las infusiones de albúmina que fueron asociadas a menor daño del glicocálix endotelial. Este hallazgo tiene plausibilidad biológica y es coherente con los hallazgos obtenidos en modelos

preclínicos. Adicionalmente, pueden servir de base para plantear futuros ensayos clínicos que evalúen el efecto de este tipo de intervenciones sobre la recuperación del glicocálix endotelial y su asociación con desenlaces clínicos de interés.

En resumen esta investigación contribuyó a crear nuevo conocimiento en tres aspectos principalmente:

1. Primera descripción de daño del glicocálix endotelial en niños con sepsis grave y choque séptico.
2. Primera descripción de la asociación entre el tipo de cristaloides y el daño del endotelio y su glicocálix.
3. Primera descripción en la literatura del compromiso endotelial y daño del glicocálix en niños con MIS-C por Covid-19.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Weiss SL, Fitzgerald JC, Pappachan J, et al. Global epidemiology of pediatric severe sepsis: the sepsis prevalence, outcomes, and therapies study. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;191(10):1147-57.
2. Boisramé-Helms J, Kremer H, Schini-Kerth V, et al. Endothelial dysfunction in sepsis. *Curr Vasc Pharmacol*. 2013;11(2):150-60.
3. Jozwiak M, Hamzaoui O, Monnet X, et al. Fluid resuscitation during early sepsis: a need for individualization. *Minerva Anesthesiol*. 2018;14:123-28
4. Fernández Sarmiento J, Araque P, Yepes M et al. Correlation between Arterial Lactate and Central Venous Lactate in Children with Sepsis. *Crit Care Res Pract*. 2016;2016:1-5.
5. Carcillo JA. Intravenous fluid choices in critically ill children: *Curr Opin Crit Care*. 2014;20(4):396-401.
6. Moritz ML, Ayus JC. Maintenance Intravenous Fluids in Acutely Ill Patients. *N Engl J Med*. 2015;373(14):1350-60.
7. Weiss Scott, Peters Mark, Alhazzani Walled et al. Surviving Sepsis Campaign International Guidelines for the Management of Septic Shock and Sepsis-Associated Organ Dysfunction in Children. *Ped Crit Care* 2020;21:e52-e106
8. Wong HR, Cvijanovich NZ, Anas N, et al. Improved Risk Stratification in Pediatric Septic Shock Using Both Protein and mRNA Biomarkers. *PERSEVERE-XP*. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;196(4):494-501.
9. Wong HR, Cvijanovich NZ, Anas N et al. Pediatric Sepsis Biomarker Risk Model-II: Redefining the Pediatric Sepsis Biomarker Risk Model With Septic Shock Phenotype. *Crit Care Med* 2016;44(11):2010-7.
10. Van Den Berg BM. The Endothelial Glycocalyx Protects Against Myocardial Edema. *Circ Res* 2003;92(6):592-4.
11. Aquino RS, Teng YH-F, Park PW. Glycobiology of sindecano -1 in bacterial infections. *Biochem Soc Trans* 2018;BST20170395.
12. López-Quintero SV, Amaya R, Pahakis M. The endothelial glycocalyx mediates shear-induced changes in hydraulic conductivity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296(5):H1451-1456.
13. Steppan J, Hofer S, Funke B, et al: Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalix. *J Surg Res* 2011; 1:136–41
14. Rovas A, Lukasz A-H, Vink H et al. Bedside analysis of the sublingual microvascular

glycocalyx in the emergency room and intensive care unit - the GlycoNurse study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* 2018;26(1):16.

15. Torres Filho IP, Torres LN, Salgado C et al. Plasma sindecano -1 and heparan sulfate correlate with microvascular glycocalyx degradation in hemorrhaged rats after different resuscitation fluids *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* 2016;310(11):H1468-78.

16. Wu X, Hu Z, Yuan H et al. . Fluid resuscitation and markers of glycocalyx degradation in severe sepsis. *Open Med* 2017;12:409-416

17. Murphy LS, Wickersham N, McNeil JB et al. Endothelial glycocalyx degradation is more severe in patients with non-pulmonary sepsis compared to pulmonary sepsis and associates with risk of ARDS and other organ dysfunction. *Ann Intensive Care* 2017 Oct 6;7(1):102

18. Henry CB, Duling BR. TNF-alpha increases entry of macromolecules into luminal endothelial cell glycocalyx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279(6):H2815-2823.

19. Akwii RG, Sajib MS, Zahra FT et al. Role of Angiopoietin-2 in Vascular Physiology and Pathophysiology. *Cells*. 2019 May 17;8(5):471.

20. Konopka-Postupolska D, Clark G, Goch G et al. The role of annexin 1 in drought stress in Arabidopsis. *Plant Physiol* 2009;150(3):1394-410.

21. Arnold P, Lu X, Amirahmadi F et al. Recombinant human annexin A5 inhibits proinflammatory response and improves cardiac function and survival in mice with endotoxemia. *Crit Care Med* 2014;42(1):e32-41.

22. Gu C, Liu M, Zhao T. Recombinant Human Annexin A5 Can Repair the Disrupted Cardiomyocyte Adherens Junctions in Endotoxemia. *Shock* 2015;44(1):83-9.

23. Semler M, Wemler MW, Self WH et al. SMART Investigators and the Pragmatic Critical Care Research Group. Balanced Crystalloids versus Saline in Critically Ill Adults. *N Engl J Med*. 2018 Mar 1;378(9):829-839

24. Zampieri FG, Machado FR, Biondi RS et al. BaSICS investigators and the BRICNet members. Effect of Intravenous Fluid Treatment With a Balanced Solution vs 0.9% Saline Solution on Mortality in Critically Ill Patients: The BaSICS Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2021 Aug 10;326(9):1–12

25. Fernández-Sarmiento J, Alcalá C, Barrera P et al. Association between unbalanced solutions and acute kidney injury during fluid resuscitation in children with sepsis. *Journal of Intensive Care Medicine* 2021; 9:1-8

26. Semler MW, Self WH, Wanderer JP et al. Balanced Crystalloids versus Saline in critically ill adults. *N Engl J Med* 2018;378(9):829-839.

27. Tan B, Ming Wong J, Sultana R et al. Global cases-fatality rates in pediatric severe

sepsis and septic shock: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatrics* 2019;173(4):352-361.

28. Jaramillo-Bustamante JC, Marín-Agudelo A, Fernández-Laverde M. Epidemiology of sepsis in pediatric intensive care units: first Colombian multicenter study. *Pediatr Crit Care Med* 2012;13(5):501-8.

29. Wang Z, Xiong Y, Schorr C et al. Impact of sepsis *bundle* strategy on outcomes of patients suffering from severe sepsis and septic shock in china. *J Emerg Med* 2013;44(4):735-41.

30. Fernández-Sarmiento J, Carcillo JA, Salinas CM et al. Implementation of the sepsis *bundle* strategy and its effect on hospital stay. *J Crit Care* 2017;42:393-4.

31. Maitland K, Kiguli S, Opoka RO. Mortality after Fluid Bolus in African Children with Severe Infection. *N Engl J Med* 2011;364(26):2483-95.

32. National Guideline Centre (Great Britain), National Institute for Health and Care Excellence (Great Britain), Royal College of Physicians of London. Sepsis: recognition, assessment and early management :2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK374137/>

33. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci.* 2013;9(10):1057-69.

34. Cosentino F, Lüscher TF. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998;32 Suppl 3:S54-61.

35. Zhang J, Bottiglieri T, McCullough PA. The Central Role of Endothelial Dysfunction in Cardiorenal Syndrome. *Cardiorenal Med* 2017;7(2):104-17.

36. Huet O, Dupic L, Harrois A. Oxidative stress and endothelial dysfunction during sepsis. *Front Biosci Landmark.* 2011;16:1986-95.

37. Nieuwdorp M, Meuwese MC, Vink H et al. The endothelial glycocalyx: a potential barrier between health and vascular disease. *Curr Opin Lipidol* 2005;16(5):507-11.

38. Luft JH. Fine structures of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Fed Proc* 1966;25(6):1773-83.

39. Van Den Berg BM, Nieuwdorp M, Stroes ESG et al. Glycocalyx and endothelial (dys) function: from mice to men. *Pharmacol Rep PR.* 2006;58 Suppl:75-80.

40. Potter DR, Jiang J, Damiano ER. The recovery time course of the endothelial cell glycocalyx in vivo and its implications in vitro. *Circ Res.* 5 de junio de 2009;104(11):1318-25.

41. Donati A, Damiani E, Domizi R. Alteration of the sublingual microvascular glycocalyx in

critically ill patients. *Microvasc Res* 2013;90:86-9.

42. Kolářová H, Ambrůzová B, Svihálková Šindlerová L et al. Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory conditions. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:694-712.

43. Gouverneur M, Berg B, Nieuwdorp M, et al. Vasculoprotective properties of the endothelial glycocalyx: effects of fluid shear stress. *J Intern Med* 2006;259(4):393-400.

44. Song JW, Zullo JA, Liveris D et al. Therapeutic Restoration of Endothelial Glycocalyx in Sepsis. *J Pharmacol Exp Ther* 2017;361(1):115-21.

45. Chappell D, Westphal M, Jacob M. The impact of the glycocalyx on microcirculatory oxygen distribution in critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol* 2009;22(2):155-62.

46. Alphonsus CS, Rodseth RN. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier. *Anaesthesia* 2014;69(7):777-84.

47. Mochizuki S, Vink H, Hiramatsu O. Role of hyaluronic acid glycosaminoglycans in shear-induced endothelium-derived nitric oxide release. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(2):H722-726.

48. Wang W. Change in properties of the glycocalyx affects the shear rate and stress distribution on endothelial cells. *J Biomech Eng* 2007;129(3):324-9.

49. Chappell D, Bruegger D, Potzel J. Hypervolemia increases release of atrial natriuretic peptide and shedding of the endothelial glycocalyx. *Crit Care* 2014;18(5):538.

50. Van Haaren PMA, VanBavel E, Vink H. Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(6):H2848-2856.

51. Henrich M, Gruss M, Weigand MA. Sepsis-Induced Degradation of Endothelial Glycocalix. *Sci World J.* 2010;10:917-23.

52. Tarbell JM, Pahakis MY. Mechanotransduction and the glycocalyx. *J Intern Med.* 2006;259(4):339-50.

53. Ueda A, Shimomura M, Ikeda M. Effect of glycocalyx on shear-dependent albumin uptake in endothelial cells. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* 2004;287(5):H2287-94.

54. Haldenby KA, Chappell DC, Winlove CP. Focal and regional variations in the composition of the glycocalyx of large vessel endothelium. *J Vasc Res* 1994;31(1):2-9.

55. Martin L, Koczera P, Zechendorf E, Schuerholz T. The Endothelial Glycocalyx: New Diagnostic and Therapeutic Approaches in Sepsis. *BioMed Res Int.* 2016;2016:3758278.

56. Woodcock TE, Woodcock TM. Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid

- therapy. *Br J Anaesth.* marzo de 2012;108(3):384-94.
57. Rehm M, Bruegger D, Christ T et al. Shedding of the endothelial glycocalyx in patients undergoing major vascular surgery with global and regional ischemia. *Circulation* 2007;116(17):1896-906.
58. González Rodríguez E, Ostrowski SR, Cárdenas JC et al. Sindecano -1: A Quantitative Marker for the Endotheliopathy of Trauma. *J Am Coll Surg* 2017;225(3):419-27.
59. Achour A, Kacem M, Dibej K et al. One year course of oral sulodexide in the management of diabetic nephropathy. *J Nephrol* 2005;18(5):568-74.
60. Ward NS, Levy MM, editores. *Sepsis* Cham: Springer International Publishing; 2017
Respiratory Medicine. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-48470-9>
61. Kawasaki T. Update on pediatric sepsis: a review. *J Intensive Care* 2017. Disponible en: <http://jintensivecare.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40560-017-0240-1>
62. Prusakowski MK, Chen AP. Pediatric Sepsis. *Emerg Med Clin North Am* 2017;35(1):123-38.
63. Menon K, McNally JD, Zimmerman JJ et al. Primary Outcome Measures in Pediatric Septic Shock Trials: A Systematic Review. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc* 2017;18(3):e146-54.
64. Paul R, Neuman MI, Monuteaux MC et al. Adherence to PALS Sepsis Guidelines and Hospital Length of Stay. *Pediatrics* 2012;130(2):e273-280.
65. Oliveira CF, Nogueira de Sá FR, Oliveira DSF et al. Time- and fluid-sensitive resuscitation for hemodynamic support of children in septic shock: barriers to the implementation of the American College of Critical Care Medicine/Pediatric Advanced Life Support Guidelines in a pediatric intensive care unit in a developing world. *Pediatr Emerg Care* 2008;24(12):810-5.
66. Fernández-Sarmiento J, Carcillo JA, Salinas CM et al A. Effect of a Sepsis Educational Intervention on Hospital Stay. *Pediatr Crit Care Med.* 2018 Jun;19(6):e321-e328
67. García PCR, Tonial CT, Piva J. Septic shock in pediatrics: the state-of-the-art. *J Pediatr (Rio J)* 2019(19):30619-9
68. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005;6(1):2-8.
69. Matics TJ, Sánchez-Pinto LN. Adaptation and Validation of a Pediatric Sequential Organ Failure Assessment Score and Evaluation of the Sepsis-3 Definitions in Critically Ill Children. *JAMA Pediatr* 2017;171(10):e172352.

70. Wheeler DS, Wong HR. Genetic approach to pediatric septic shock. *Pers Med*. 2008;5(3):249-63.
71. Maksimenko AV, Turashev AD. Endothelial glycocalyx of blood circulation. II. Biological functions, state at norm and pathology, bioengineering application. *Bioorg Khim* 2014;40(3):259-74.
72. Alder MN, Lindsell CJ, Wong HR. The pediatric sepsis biomarker risk model: potential implications for sepsis therapy and biology. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12(7):809-16.
73. Frati-Munari AC. Importancia médica del glucocáliz endotelial. *Arch Cardiol México*. 2013;83(4):303-12.
74. Downie L, Armiento R, Subhi R et al. Community-acquired neonatal and infant sepsis in developing countries: efficacy of WHO's currently recommended antibiotics--systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child* 2013;98(2):146-54.
75. Moresco BL, Woosley C, Sauter M et al. Poor Compliance with Sepsis Guidelines in a Tertiary Care Children's Hospital Emergency Room. *Front Pediatr*. 2018;6:53.
76. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017;43(3):304-77.
77. Fernández-Sarmiento J, Flórez S, Alarcón-Forero LC et al. Case Report: Endothelial Glycocalyx Damage in Critically ill Patients With SARS-CoV-2-Related Multisystem Inflammatory Syndrome (MIS-C). *Front. Pediatr* 2021. 9:726949
78. Carcillo JA, Davis AL, Zaritsky A. Role of early fluid resuscitation in pediatric septic shock. *JAMA* 1991;266(9):1242-5.
79. Sankar J, Ismail J, Sankar MJ. Fluid Bolus Over 15-20 Versus 5-10 Minutes Each in the First Hour of Resuscitation in Children With Septic Shock: A Randomized Controlled Trial. *Pediatr Crit Care* 2017;18(10):e435-45.
80. Barea-Mendoza J, Chico-Fernández M, Montejo-González JC. Balanced Crystalloids versus Saline in Critically Ill Adults. *N Engl J Med*. 2018;378(20):1950-1.
81. Soussi S, Ferry A, Chaussard M, Legrand M. Chloride toxicity in critically ill patients: What's the evidence? *Anaesth Crit Care Pain Med* 2017;36(2):125-30.
82. Kisson N, Carcillo JA, Global Sepsis Initiative of the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies. Mortality after fluid bolus in African children with sepsis. *N Engl J Med* 2011;365(14):1350; author reply 1351-1353.
83. Bush MA, Florence SM, Yeo TW et al. Degradation of endothelial glycocalyx in Tanzanian children with falciparum malaria. *FASEB J*. 2021 Sep;35(9):e21805.

84. Deep A, Sagar H, Goonasekera C, Karthikeyan P et al. Evolution of Acute Kidney Injury and Its Association With Systemic Hemodynamics in Children With Fluid-Refractory Septic Shock. *Crit Care Med* 2018;46(7):e677-e683
85. Weiss SL, Keele L, Balamuth F et al. Crystalloid fluid choice and clinical outcomes in pediatric sepsis: a matched retrospective cohort study. *J Pediatr* 2017;182(304-310):e10.
86. Emrath ET, Fortenberry JD, Travers C. Resuscitation with balanced fluids is associated with improved survival in pediatric severe sepsis. *Crit Care Med* 2017;45:1177-118.
87. Steppan J, Hofer S, Funke B, et al: Sepsis and major abdominal surgery lead to flaking of the endothelial glycocalyx. *J Surg Res* 2011;1:136–41
88. Rovas A, Seidel LM, Vink H, et al: Association of sublingual microcirculation parameters and endothelial glycocalyx dimensions in resuscitated sepsis. *Crit Care* 2019; 23:260
89. Kataoka H, Ushiyama A, Akimoto Y, et al: Structural behavior of the endothelial glycocalyx is associated with pathophysiologic status in septic mice: An integrated approach to analyzing the behavior and function of the glycocalyx using both electron and fluorescence intravital microscopy. *Anesth Analg* 2017; 125:874–883
90. Hippensteel JA, Uchimido R, Tyler PD, et al: Intravenous fluid resuscitation is associated with septic endothelial glycocalyx degradation. *Crit Care* 2019; 23:259
91. Schmidt EP, Yang Y, Janssen WJ, et al: The pulmonary endothelial glycocalyx regulates neutrophil adhesion and lung injury during experimental sepsis. *Nat Med* 2012; 18:1217–1223
92. Lukasz A, Hillgruber C, Oberleithner H et al. Endothelial glycocalyx breakdown is mediated by angiopoietin-2. *Cardiovasc Res.* 2017;113:671–80.
93. Maitland K, Kiguli S, Opoka RO et al. FEAST Trial Group. Mortality after fluid bolus in African children with severe infection. *N Engl J Med.* 2011 Jun 30;364(26):2483-95.
94. Semler MW, Self WH, Wang L et al. Isotonic Solutions and Major Adverse Renal Events Trial (SMART) Investigators; Pragmatic Critical Care Research Group. Balanced crystalloids versus saline in the intensive care unit: study protocol for a cluster-randomized, multiple-crossover trial. *Trials.* 2017 Mar 16;18(1):129. doi: 10.1186/s13063-017-1871-1.
95. Self WH, Evans CS, Jenkins CA et al. Clinical Effects of Balanced Crystalloids vs Saline in Adults With Diabetic Ketoacidosis: A Subgroup Analysis of Cluster Randomized Clinical Trials. *JAMA Netw Open.* 2020 Nov 2;3(11):e2024596.
96. Barhight MF, Nelson D, Moran T, Christiano J, Sanchez-Pinto LN. Association between the use of balanced fluids and outcomes in critically ill children: a before and after study. *Crit Care.* 2021 Jul 29;25(1):266.

97. Lehr AR, Rached-d'Astous S, Parker M et al. Impact of balanced versus unbalanced fluid resuscitation on clinical outcomes in critically ill children: protocol for a systematic review and meta-analysis. *Syst Rev*. 2019 Aug 5;8(1):195
98. Barhight MF, Brinton JT, Soranno DE, Faubel S, Mourani PM, Gist KM. Effects of hyperchloremia on renal recovery in critically ill children with acute kidney injury. *Pediatr Nephrol*. 2020 Jul;35(7):1331-1339.
99. Yessayan L, Neyra JA, Canepa-Escaro F et al. Acute Kidney Injury in Critical Illness Study Group. Effect of hyperchloremia on acute kidney injury in critically ill septic patients: a retrospective cohort study. *BMC Nephrol*. 2017 Dec 2;18(1):346.
100. Barhight MF, Lusk J, Brinton J et al. Hyperchloremia is independently associated with mortality in critically ill children who ultimately require continuous renal replacement therapy. *Pediatr Nephrol*. 2018 Jun;33(6):1079-1085.
101. Wernly B, Heramvand N, Masyuk M et al. Acidosis predicts mortality independently from hyperlactatemia in patients with sepsis. *Eur J Intern Med*. 2020 Jun;76:76-81.
102. Zhang Z, Zhu C, Mo L et al. Effectiveness of sodium bicarbonate infusion on mortality in septic patients with metabolic acidosis. *Intensive Care Med*. 2018 Nov;44(11):1888-1895.
103. Hahn RG, Lyons G. The half-life of infusion fluids: An educational review. *Eur J Anaesthesiol*. 2016;33(7):475-482. doi:10.1097/EJA.0000000000000436
104. Thind GS, Zanders S, Baker JK. Recent advances in the understanding of endothelial barrier function and fluid therapy. *Postgrad Med J*. 2018 May;94(1111):289-295.
105. Drobin D, Hahn RG. Kinetics of isotonic and hypertonic plasma volume expanders. *Anesthesiology* 2002; 96:1371–1380
106. Hahn RG, Lindahl C, Drobin D. Volume kinetics of acetated Ringer's solution during experimental spinal anesthesia. *Acta Anaesthesiol Scand* 2011; 55:987–994
107. Jacob M, Bruegger D, Rehm M, et al: The endothelial glycocalyx affords compatibility of Starling's principle and high cardiac interstitial albumin levels. *Cardiovasc Res* 2007; 73:575–586
108. Hahn RG, Dull RO, Zdolsek J. The Extended Starling principle needs clinical validation. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2020 Aug;64(7):884-887.
109. Levick JR, Michel CC: Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res* 2010; 87:198–210
110. Zeng Y, Adamson RH, Curry FR, et al: Sphingosine-1-phosphate protects endothelial glycocalyx by inhibiting syndecano-1 shedding. *Am J physiol Heart Circ Physiol* 2014; 306:H363–H372

111. Ueda A, Shimomura M, Ikeda M, et al: Effect of glycocalyx on shear dependent albumin uptake in endothelial cells. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* 2004; 5:2287–2294
112. Fernández-Sarmiento J, Salazar-Peláez LM, Carcillo JA. The Endothelial Glycocalyx: A Fundamental Determinant of Vascular Permeability in Sepsis. *Pediatr Crit Care Med*. 2020 May;21(5):e291-e300.
113. Caironi P, Tognoni G, Masson S et al. ALBIOS Study Investigators. Albumin replacement in patients with severe sepsis or septic shock. *N Engl J Med*. 2014 Apr 10;370(15):1412-21.
114. Guidet B, Ghout I, Ropers J et al. Economic model of albumin infusion in septic shock: The EMAISS study. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2020 Jul;64(6):781-788.
115. Piotti A, Novelli D, Meessen JMTA et al. ALBIOS Investigators. Endothelial damage in septic shock patients as evidenced by circulating syndecano-1, sphingosine-1-phosphate and soluble VE-cadherin: a substudy of ALBIOS. *Crit Care*. 2021 Mar 19;25(1):113.
116. Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2007 Oct;7(10):803-15.
117. Ito T, Kakuuchi M, Maruyama I. Endotheliopathy in septic conditions: mechanistic insight into intravascular coagulation. *Crit Care*. 2021 Mar 8;25(1):95.
118. Consiglio CR, Cotugno N, Sardh F et al. The immunology of Multisystem Inflammatory Syndrome in Children with COVID-19. *Cell* 2020;183:968-981.
119. Schoonderwoerd MJA, Goumans MTH, Hawinkels LJAC. Endoglin: Beyond the Endothelium. *Biomolecules*. 2020;10(2):289. Published 2020 Feb 12. doi:10.3390/biom10020289.
120. Vella LA, Giles JR, Baxter AE et al. Deep immune profiling of MIS-C demonstrates marked but transient immune activation compared to adult and pediatric COVID-19. *Sci Immunol*. 2021 Mar 2;6(57):eabf7570. doi: 10.1126/sciimmunol.abf7570.
121. Zhou X, Fragala MS, McElhaney JE et al. Conceptual and methodological issues relevant to cytokine and inflammatory marker measurements in clinical research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010;13(5):541-547.
122. Haack M, Pollmacher T, Mullington JM. Diurnal and sleep-wake dependent variations of soluble TNF- and IL-2 receptors in healthy volunteers. *Brain Behav. Immun*. 2004;18:361–367.
123. Riches P, Gooding R, Millar BC et al. Influence of collection and separation of blood samples on plasma IL-1, IL-6 and TNF-alpha concentrations. *J. Immunol. Methods*. 1992;153:125–131.

124. de Jager W, Bourcier K, Rijkers GT et al. Prerequisites for cytokine measurements in clinical trials with multiplex immunoassays. *BMC.Immunol.* 2009;10:52.

15. Anexos

Anexo 1. Consentimiento informado para la participación de investigación clínica dirigido a los padres

Nombre del estudio	Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con soluciones cristaloides.
Protocolo n°:	
Investigador principal	Investigador Jaime Fernández-Sarmiento Director Unidad de Cuidado Intensivo Pediátrico Jefe postgrado Cuidado Intensivo Pediátrico Universidad de la Sabana Estudiante de Doctorado Ciencias de la Salud Universidad CES
Instituciones participantes	Universidad CES – Fundación Cardioinfantil-IC.

Respetado padre de familia:

Lo invitamos a participar en el estudio “*Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con soluciones cristaloides*” Este estudio será conducido por la Universidad CES y la Fundación Cardioinfantil Instituto de Cardiología (FCI), como parte de la tesis de doctorado cuyo investigador principal es Jaime Fernández-Sarmiento y es importante que lea en detalle el siguiente documento.

El objetivo del estudio es evaluar los efectos que tiene sobre el glicocálix endotelial (pequeña “*gelatina*” que cubre las células de las arterias y venas de todo el cuerpo) el uso de suero (lactato de Ringer o solución salina) que se usa de manera rutinaria cuando los niños tienen una enfermedad llamada sepsis como la que tiene su hijo/a.

Esa pequeña capa de “gelatina” llamada glicocálix protege al cuerpo de la salida de líquido de las arterias y venas y fue descubierto hace cerca de 15 años. Desde hace pocos años se cuenta con una forma de medirlo en aquellas venas que están debajo de la lengua con un equipo de última generación que solo estaba disponible en los Estados Unidos y en algunos países de Europa, así como con exámenes de sangre que miden los niveles de algunas partes de esta “gelatina”. Saber si está o no alterado el glicocálix (pequeña “gelatina” que cubre las células de las arterias y venas de todo el cuerpo) y si se afecta en mayor o menor medida por la enfermedad llamada sepsis, así como por sus tratamientos es muy importante para buscar alternativas médicas que permitan que los niños se recuperen más rápidamente de esta enfermedad tan grave que motiva el ingreso a cuidados intensivos de su hijo/a.

Pedimos su autorización para que su hijo/hija participe en la investigación donde se realizarán las mediciones antes de colocar el suero, así como a las 2 horas, a las 6 y 24 horas, en caso de que por su enfermedad el médico tratante ordene a las enfermeras aplicación de suero (lactato de Ringer o solución salina). Las mediciones consistirán en:

1. Medir debajo de la lengua con un equipo médico que es un videomicroscopio como se encuentra ese glicocálix (la gelatina de las venas) en su hijo/a. Este procedimiento dura en promedio dos minutos y no es doloroso ni tiene ningún efecto que pueda dañar o lesionar a su hijo/a. Este equipo tomará fotos de las pequeñas venas debajo de la lengua que analizará un computador.
2. Toma de muestra de sangre de 1 ml en tubo lila antes, después, a las 6 y 24 horas de colocar el suero para medir unas sustancias en la sangre que se encuentran altas cuando el glicocálix está dañado (sindecano-1, endocan, angiopoietina-2, anexina).

Las mediciones serán realizadas con el equipo mencionado por el intensivista pediatra de turno y la muestra de sangre será trasladada para su análisis al laboratorio de la Fundación Cardioinfantil, y posteriormente la muestra será destruida. Los resultados de los exámenes podrá conocerlos y recibir copia si así lo desea.

Estas mediciones no tendrán **ningún costo económico** para usted ni su hijo/a. Se realizarán completamente gratis tanto la medición que se hace con el equipo médico para medir la “gelatina” llamada glicocálix debajo de la lengua, como los estudios de pruebas de sangre.

De acuerdo a la legislación colombiana, el estudio es definido como **con riesgo mínimo** para su hijo/a dado que emplea el registro de datos a través de procedimientos comunes como el examen físico y toma de muestra de sangre venosa. Los riesgos asociados con la extracción de sangre del niño son mínimos porque por su condición médica tiene un catéter en una arteria o vena de su cuerpo que colocamos de rutina en niños con sepsis que están conectados a un respirador artificial, para tomar muestras de sangre sin que cause dolor y para poder ver su presión arterial de manera permanente y continua, y así saber si existe deterioro o mejoría en su estado clínico.

Su **participación es voluntaria** y no generará ningún costo para usted ni tampoco tiene ninguna compensación económica, y usted podrá negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento, sin necesidad de dar explicación alguna sobre los motivos de su decisión, y sin que ello tenga ninguna repercusión en la atención médica que su hijo/a está recibiendo. Si decide retirar su consentimiento, las muestras sanguíneas que hayan sido procesadas serán descartadas.

Se obtendrá como **beneficio** para la investigación al ser la primera vez en países de Suramérica y en Colombia que se evalúa el estado de los vasos sanguíneos pequeños particularmente del glicocálix, de manera directa con un equipo médico de última generación, así como detectar tempranamente alteraciones en la sangre de las mediciones del glicocálix (“gelatina” que cubre venas y arterias) y de esta manera contribuir a la elaboración de guías de manejo médico para sepsis que estén basadas en las causas de la enfermedad, sus agravantes y poder ofrecer mejores alternativas de tratamiento a futuro para niños que están en una situación grave como la de su hijo/a.

La información suministrada por usted y los datos tomados de la historia clínica de su hijo/a, serán tratados como **confidenciales** y no estarán disponibles sin su consentimiento para ningún otro estudio. Si en cualquier momento o por cualquier razón decide no participar, su registro será excluido inmediatamente o si desea conocer, corregir, actualizar, rectificar o suprimir los datos que se han tomado de la historia clínica o revocar la presente autorización puede ponerse en contacto con el investigador principal, cuyos datos se presentan a continuación.

Si tiene alguna pregunta sobre el registro ahora o en cualquier momento en el futuro, por favor comuníquese con el Investigador Jaime Fernández-Sarmiento en la Fundación Cardioinfantil, teléfono: 6672727 ext.32004

Consentimiento

Una vez leída y comprendida la información anterior y luego de que se me han contestado todas las preguntas he decidido de manera libre y voluntaria autorizar a que mi hijo (a) participe en el estudio y a que se realicen las mediciones con videomicroscopio y la toma de muestras sanguíneas para el estudio “Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con cristaloides”.

Nombre _____ del
niño/niña _____

Nombre del representante legal (padre o madre): _____	Firma del acudiente: _____
Cédula	Fecha : _____ _____ _____ Día Mes Año
Parentesco	
Huella	

<p>Nombre del Testigo 1</p> <hr/> <p>Cédula: Parentesco:</p> <p>Dirección:</p> <p>Huella:</p>	<p>Firma del Testigo 1</p> <hr/> <p>Fecha : _____ _____ _____ </p> <p style="text-align: center;">Día Mes Año</p>
<p>Nombre del Testigo 2</p> <hr/> <p>Cédula:</p> <p>Parentesco:</p> <p>Dirección:</p> <p>Huella</p>	<p>Firma del Testigo 2</p> <hr/> <p>Fecha : _____ _____ _____ </p> <p style="text-align: center;">Día Mes Año</p>

<p>Nombre investigador principal:</p> <p style="text-align: center;">Jaime Fernández-Sarmiento</p> <p>Cédula:</p> <p>Huella:</p>	<p>Firma del investigador principal:</p> <hr/> <p>Fecha : _____ _____ _____ </p> <p style="text-align: center;">Día Mes Año</p>
--	--

Anexo 1.1. Copia de la primera página del consentimiento informado con sello de aprobación de las instituciones participantes del estudio.

APROBADO
20 MAY 2019
Comité Institucional
de Ética en Investigación
en Humanos
Universidad CES

12. Anexos

**Anexo 1. Consentimiento informado para la participación de investigación clínica
dirigido a los padres**

Nombre del estudio	Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con cristaloides.
Protocolo n°:	
Investigador principal	Dr. Jaime Fernández-Sarmiento Director Unidad de Cuidado Intensivo Pediátrico Jefe postgrado Cuidado Intensivo Pediátrico Universidad de la Sabana Estudiante de Doctorado Ciencias de la Salud Universidad CES
Instituciones participantes	Universidad CES – Fundación Cardioinfantil-IC

Respetado padre de familia:

Lo invitamos a participar en el estudio "*Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con cristaloides*". Este estudio será conducido por la Universidad CES y la Fundación Cardioinfantil Instituto de Cardiología (FCI), cuyo investigador principal es el Dr. Jaime Fernández-Sarmiento, y es importante que lea en detalle el siguiente documento.

El objetivo de estudio es evaluar los efectos que tiene sobre el glicocálix endotelial (pequeña "*gelatina*" que cubre las células de las arterias y venas de todo el cuerpo) el uso de suero (lactato de Ringer o solución salina) que se usa de manera rutinaria cuando los niños tienen una enfermedad llamada sepsis como la que tiene su hijo/a.

Esa pequeña capa de "gelatina" llamada glicocálix protege al cuerpo de la salida de líquido de las arterias y venas y fue descubierto hace cerca de 15 años. Desde hace pocos años se cuenta con una forma de medirlo en aquellas venas que están debajo de la lengua con un equipo de última generación que solo estaba disponible en los Estados Unidos y en algunos países de Europa, así como con exámenes de sangre que miden los niveles de algunas partes de esta "gelatina". Saber si está o no alterado el glicocálix y si se afecta en mayor o menor medida por la enfermedad llamada sepsis, así como por sus tratamientos es muy importante para buscar alternativas médicas que permitan que los niños se

84

1. Anexos

Anexo 1. Consentimiento informado para la participación de investigación clínica dirigido a los padres

Nombre del estudio	Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con cristaloides.
Protocolo n°:	
Investigador principal	Investigador Jaime Fernández-Sarmiento Pediatra Intensivista Doctorado Ciencias de la Salud Universidad CES
Instituciones participantes	Universidad CES – Fundación Cardioinfantil-IC-Universidad de la Sabana

Respetado padre de familia:

Lo invitamos a participar en el estudio "*Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con cristaloides*". Este estudio será conducido por la Universidad CES y la Fundación Cardioinfantil Instituto de Cardiología (FCI), como parte de la tesis de doctorado cuyo investigador principal es Jaime Fernández-Sarmiento y es importante que lea en detalle el siguiente documento.

El objetivo del estudio es evaluar los efectos que tiene sobre el glicocálix endotelial (pequeña "*gelatina*" que cubre las células de las arterias y venas de todo el cuerpo) el uso de suero (lactato de Ringer o solución salina) que se usa de manera rutinaria cuando los niños tienen una enfermedad llamada sepsis como la que tiene su hijo/a.

Esa pequeña capa de "gelatina" llamada glicocálix protege al cuerpo de la salida de líquido de las arterias y venas y fue descubierto hace cerca de 15 años. Desde hace pocos años se cuenta con una forma de medirlo en aquellas venas que están debajo de la lengua con un equipo de última generación que solo estaba disponible en los Estados Unidos y en algunos países de Europa, así como con exámenes de sangre que miden los niveles de algunas partes de esta "gelatina". Saber si está o no alterado el glicocálix (pequeña "*gelatina*" que cubre las células de las arterias y venas de todo el cuerpo) y si se afecta en mayor o menor medida por la enfermedad llamada sepsis, así como por sus tratamientos es muy importante para buscar alternativas médicas que permitan que los niños se



Anexo 2. Herramienta de recolección de datos investigación “Alteraciones del endotelio y su glicocálix en niños con sepsis sometidos a reanimación hídrica con cristaloides”.

Identificación del paciente:

Nombre _____ Edad en meses _____
 Peso: _____ Talla: _____
 Seguridad social: _____ Historia clínica: _____
 Escala PIM-2 _____ Tipo de gases: Arteriales __ Venosos
 Foco infeccioso: _____
 Sepsis grave _____ Choque séptico _____

Hora inicio	Hora T0	Hora T1	Hora T2	Hora T3
Frecuencia cardíaca				
Presión arterial				
Tipo de Cristaloides				
Dosis				
Sindecano -1				
Endocan				
Angiopietina-2				
Anexina A5				
PBR				
Lactato				
PH				
Bicarbonato				
PaO2				
PCO2				
Sodio				
Potasio				
Cloro				
Calcio iónico				
BUN				
Creatinina				
PCR				
Score vasoactivo				
Ferritina				
PCT				

T0: Antes de aplicación del bolo de cristalóide. T1: inmediatamente termina el bolo de cristalóide. T2: A las 6 horas del inicio de la aplicación del bolo. T3: A las 24 horas de inicio de aplicación del bolo.

16. Soporte de Publicaciones, ponencias y demás actividades de divulgación relacionadas con la tesis.

A continuación se resumen en la siguiente tabla las publicaciones derivadas de la tesis y las ponencias.

TITULO	TIPO DE PRODUCTO	AUTORES	REVISTA O EDITORIAL	ESTADO ACTUAL	VINCULADO GRUPLAC
1. The Endothelial Glycocalyx : A Fundamental Determinant of Vascular Permeability in Sepsis	Revisión narrativa	Jaime Fernández-Sarmiento , Lina M. Salazar-Peláez, Joseph Carcillo	Pediatric Critical Care Medicine 2020; 21:e291–e300)	Publicado – Revista Q1	Grupo Investigación en Ciencias básicas Universidad CES – Grupo de Enfermedades prevalentes de la Infancia (Universidad de la Sabana), Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
2. Venous–arterial CO2 difference in children with sepsis and its correlation with myocardial dysfunction	Investigación original	Jaime Fernández-Sarmiento Joseph A. Ana Maria Eraso Díaz del Barrera4, Orozco5, Rodríguez5, Gualdrón4 Pedro Rafael María Angélica Nathalie	Qatar Medical Journal 2019;18;1-8http://dx.doi.org/qmj.2019.18	Publicado Revista Q2	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
3. Association Between Unbalanced Solutions and Acute Kidney Injury During Fluid Resuscitation in Children With Sepsis	Investigación original	Jaime Fernández-Sarmiento , MD, Catalina Alcalá-Lozano, Pedro Alexander Barrera, M Sofia Camila Erazo, Laura Bibiana Gómez, Martha Reyes	Journal Intensive Care Med . 2021 Apr 29;88506662 11004453. doi: 10.1177/08850666211004453.	Publicado Revista Q1	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
4.. Case report: Endothelial glycocalyx damage in critically ill patients with SARS-CoV-2-related multisystem inflammatory syndrome (MIS-C)	Reporte de caso	Jaime Fernández-Sarmiento Steffanie Flórez, Laura C Alarcón-Forero, Lina	Frontiers in Pediatrics 2021;9:1-4	Publicado Revista Q1	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en

TITULO	TIPO DE PRODUCTO	AUTORES	REVISTA O EDITORIAL	ESTADO ACTUAL	VINCULADO GRUPLAC
		María Salazar-Peláez, Julio Cesar García Hernando Mulett, Lorena Acevedo Carolina Salamanca			Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
5. Endothelial damage in sepsis : the importance of the system biology	Revisión Narrativa	Jaime Fernández-Sarmiento Lorena Acevedo Carolina Ramírez-Santana Yeny Acosta-Ampudia Diana M. Monsalve, Joseph A Carcillo	Frontiers in Pediatrics	Aceptado 19 enero 2021 Revista Q1	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
6. Latin American Consensus on the Management of Sepsis in Children: Sociedad Latinoamericana de Cuidados Intensivos Pediátricos [Latin American Pediatric Intensive Care Society] (SLACIP) Task Force: Executive summary	Revisión sistemática	Fernández-Sarmiento Jaime , De Souza Daniela Carla, Martínez Anacaona, Nieto Victor, López-Herce Jesús, Soares Lanziotti Vanessa, Arias López María del Pilar, Brunow De Carvalho Werther, Oliveira Claudio F, Jaramillo Juan Camilo	Journal Of Intensive Care Medicine 2021 Nov 23:8850666211054444. doi: 10.1177/08850666211054444.	Publicado Revista Q1	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
7. Challenges of implementing the Paediatric Surviving Sepsis Campaign International Guidelines 2020 in resource-limited settings: A real-world view beyond the academia	Revisión narrativa	Gavin Wooldridgea, Nicole O'Brienb, Fiona Muttalibc, Qalab Abbasd, John Adabie Appiahe, Tim Bakerf,	Revista Chilena de Pediatría (Andes Pediátrica) Andes pediater. 2021;92(6):	Publicado Revista Q3	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC

TITULO	TIPO DE PRODUCTO	AUTORES	REVISTA O EDITORIAL	ESTADO ACTUAL	VINCULADO GRUPLAC
		Arun Bansalg, Sangita Basneth, Santiago Campos-Miñoi, Daniela Carla de Souzaj, Franco Díazk, Angela Dramowskil, Jaime Fernández-Sarmientom , Ana Fustiñanan et al.	DOI: 10.32641/an despediatr.v 92i6.4030		
8. Bundle for COVID-19 pediatric sepsis	Revisión Narrativa	Fernández-Sarmiento Jaime , Werther Brunow de Carvalho	Rev Assoc Med Bras 2021;67(Sup pl 1):26-28	Publicado Revista Q3	Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC

Las siguientes publicaciones se realizaron durante el desarrollo del Doctorado y contribuyeron al grupo de investigación de Ciencias Básicas de la Universidad CES.

TITULO	TIPO DE PRODUCTO	AUTORES	REVISTA, EDITORIAL O EVENTO	ESTADO ACTUAL	VINCULADO GRUPLAC
1. Prevalence, clinical outcomes and rainfall association of acute respiratory infection by human metapneumovirus in children in Bogotá, Colombia	Investigación Original	Evelyn Obando, Jaime Fernández-Sarmiento David Montoya, Lorena Acevedo, Oscar Gamboa	BMC Pediatrics 2019: 19;345	Publicado Revista Q1	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
2. Severe SARS-CoV-2 infection in critical care	Revisión Narrativa	Jaime Fernandez-Sarmiento , Lorena Acevedo, Hernando Mulet, Sarah	Trends in Anaesthesia & Critical Care. 2020 Oct; 34: 28–37.	Publicado Revista Q3	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades

TITULO	TIPO DE PRODUCTO	AUTORES	REVISTA, EDITORIAL O EVENTO	ESTADO ACTUAL	VINCULADO GRUPLAC
		Bastidas, Mauricio Sarta, Nelson Duran Shayl Chacon, Ana María Bejarano- Quintero, Orlanzo Mizar, Andrea Perez Juanita Uribe- Londono			Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatria Fundación Cardioinfantil-IC
3. Recommendations for the initial management of multisystem inflammatory syndrome temporally related to COVID-19, in children and adolescents	Revisión Sistemática	Dr. Guillermo Kohn- Loncaricaa, Dra. Ana Fustiñanab, Dr. Franco Di.az-Rubioc, Dr. Juan C. Jaramillo- Bustamanted, Dr. Sebastián Gonza.lez- Dambrauskase, Dr. Pablo Va.squez- Hoyosf, Dr. Jaime Fernandez- Sarmientog , Dr. Gustavo Gonzálezh, Dr. Alejandro Mansuri, Dr. Javier Poncej y Dr. Roberto Jaborniskyk	Arch Argent Pediatr 2020;118(6):e5 14-e526	Publicado Revista Q3	Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatria Fundación Cardioinfantil-IC
4. Pediatric Critical Care and COVID-19	Investigación original	Sebastián González- Dambrauskas, Pablo Vásquez- Hoyos, MD,Anna Camporesi, MD, Franco Díaz-Rubio, MD,Byron Enrique Piñeres-Olave, MD, Jaime Fernández- Sarmiento , MD,Shira Gertz, MD, FAAP, Ilana Harwayne- Gidansky, MD,Pietro Pietroboni, MD,Steven L. Shein, MD,Javier Urbano, MD, PhDAdriana Wegner, MD,Eliana Zemanate, Todd Karsies, MD, MPH .p CRITICAL CORONAVIRUS	Pediatrics. 2020;146(3):e2 0201766	Publicado Revista Q1	Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatria Fundación Cardioinfantil-IC

TITULO	TIPO DE PRODUCTO	AUTORES	REVISTA, EDITORIAL O EVENTO	ESTADO ACTUAL	VINCULADO GRUPLAC
		AND KIDS EPIDEMIOLOGY CAKE STUDY			
4. Kawasaki disease in Colombia: A systematic review and contrast with multisystem inflammatory syndrome in children associated with COVID-19	Revisión sistemática	Kevin Llinás-Caballero, Yhojan Rodríguez, Jaime Fernández-Sarmiento , Mónica Rodríguez-Jiménez, Anaya, Juan-Manuel	Rev Colomb Reumatol. 2021. https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2020.11.004	Publicado Revista Q3	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
5. Paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with COVID-19 (PIMST): a narrative review and the viewpoint of the Latin American Society of Pediatric Intensive Care (SLACIP) Sepsis Committee	Revisión narrativa	Jaime Fernández-Sarmiento Daniela De Souza, Roberto Jabornisky Palacio, Gustavo Ariel Gonzalez, Maria del Pilar Arias López, Gladys Palacio.	BMJ Paediatrics Open 2021;5:e000894. doi:10.1136/bmjpo-2020-000894	Publicado Revista Q2	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
6. MORTALITY AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF MULTISYSTEM INFLAMMATORY SYNDROME IN CHILDREN (MIS-C) ASSOCIATED WITH COVID-19 IN CRITICALLY ILL PATIENTS: AN OBSERVATIONAL MULTICENTER STUDY (MISCO STUDY)	Investigación Original	Lorena Acevedo ,Byron Enrique Piñeres-Olave, Laura Fernanda Niño-Serna, Jaime Fernández-Sarmiento	BMC Pediatr. 2021 Nov 18;21(1):516. doi:10.1186/s12887-021-02974-9.	Publicado Revista Q1	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC

TITULO	TIPO DE PRODUCTO	AUTORES	REVISTA, EDITORIAL O EVENTO	ESTADO ACTUAL	VINCULADO GRUPLAC
7. Description of the clinical course and severity score progression in critically ill children with acute bronchiolitis on high-flow nasal cannula support	Investigación original	Nelson Durán Ochoa, Tammy Edel Nudelman, Hernando Mulett Hoyos, Alirio Bastidas Cesar A. Díaz Ritter Jaime Fernández Sarmiento	Journal of Advances in Medical and Biomedical Research	Aceptado Revista Q4	Grupo investigación en Ciencias Básicas, Universidad CES. Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
8. Global Respiratory Syncytial Virus–Related Infant Community Deaths.	Investigación original	,Natalie I. Mazur,1 Yvette N. Löwensteyn,1 Joukje E. Willemsen,1 Christopher J. Gill,2 Leah Forman,2 Lawrence M. Mwananyanda, RSV GOLD grupo : Jaime Fernández-Sarmiento	Clinical Infectious Diseases 2021:73 (Suppl 3) • S229	Publicado Revista Q1	Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
9. Factors Associated with Severe Acute Respiratory Infections Due to Rhinovirus/Enterovirus Complex in Children and Their Comparison with Those of Respiratory Syncytial Virus	Investigación original	Jaime Fernández-Sarmiento , Silvia Catalina Corrales, Evelyn, Jennifer Amin, Alirio Bastidas Goyes Pedro A Barrera Lopez 1 and Nicolas Bernal Ortiz	Arch Pediatr Infect Dis. In Press(In Press):e115548. doi: 10.5812/pedinfect.115548 .	Publicado Revista Q4	Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC
10. Association Between Serum Lactate and Unsatisfactory Outcomes in Critically Ill Children in the Immediate Post-operative Period of Liver Transplantation	Investigación original	Jaime Fernández-Sarmiento María Angélica Wilches-Cuadros Ricardo Hernandez-Sarmiento, Hernando Mulett Karen Moreno Nicolás Molano4, Julián Augusto Palomar, Lorena Acevedo, Claudia Salinas and Jairo Rivera	Front. Pediatr. 9:796504. doi: 10.3389/fped.2021.796504	Publicado Enero 2022 Revista Q1	Grupo Enfermedades Prevalentes de la Infancia Universidad de la Sabana, Grupo de investigación en Pediatría Fundación Cardioinfantil-IC

Ponencias relacionadas con la tesis 2021

Fecha	Evento	Nacional o Internacional	Organizador	Título ponencia
12 marzo	Novedades en Medicina Crítica Pediátrica	México	World Federation Pediatric Intensive Care Critical Societies (WFPICCS) and Sociedad Latinoamericana de Cuidados Intensivos (SLACIP)	Que hay de nuevo en Sepsis
13 abril	Pediatric Interest Grupo – Jornada trimestral	Nacional	Universidad de la Sabana	Medicina de Precisión en Sepsis
27 mayo	X Congreso Nacional de Medicina Crítica	Nacional	Asociación Colombiana de Medicina Crítica	1. Avances en Ventilación mecánica 2. Consenso Latinoamericano de Sepsis en niños
20 mayo	XVII FORUM international de Sepse	Brasil	Instituto Latinoamericano de Sepsis (ILAS)	The role of endothelium in sepsis
11 Septiembre	Seminario Web: Piensa en Sepsis	Perú	Sociedad Peruana de Pediatría: capítulo medicina Intensiva	Alteraciones del endotelio en sepsis
17 septiembre	XVI Congreso Latinoamericano de Cuidado Intensivo Pediátrico	Chile	Sociedad Latinoamericana de Cuidados Intensivos Pediátricos (SLACIP)	Consenso Latinoamericano de Sepsis Pediátrica
28 Septiembre	IX Simposio de Ciencias Básicas	Medellin (Nacional)	Escuela de Graduados Universidad CES	Alteración del endotelio en sepsis

11 noviembre	Celebración 50 años Hospital Rebagliatti	Perú	Sociedad Peruana de Medicina Intensiva	Alteración del endotelio en sepsis
16 noviembre	31 Congreso Argentino de Terapia Intensiva	Argentina	Sociedad Argentina de Terapia Intensiva	Consenso Latinoamericano de Sepsis Pediátrica