

**Daño del glicocálix endotelial en niños con sepsis
que reciben bolos de cristaloides no balanceados**

Daño del glicocáliz endotelial en niños con sepsis que reciben bolos de cristaloides no balanceados

Investigadores principales

Steffanie Flórez Mercado MD
Residente de Cuidado Intensivo Pediátrico
Universidad de La Sabana
Pediatria Universidad Libre.

Laura Carolina Alarcón Forero, MD
Residente de Cuidado Intensivo Pediátrico
Universidad de La Sabana
Pediatria Universidad del Rosario

Jaime Fernández Sarmiento. MD PhD
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

Dr Julio Cesar García MD MSc
Profesor Asociado Universidad de la Sabana

Instituciones participantes

Grupo de Investigación Enfermedades Prevalentes de la Infancia

Universidad de La Sabana

Grupo de Investigación Evidencia Terapéutica

Universidad de La Sabana.

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

Chía, Junio del 2022

Dedicatoria:

A nuestras familias que estuvieron siempre muy de cerca, acompañando cada paso que
dábamos, con mucho amor.

A nuestros maestros, con mención especial al Dr Jaime Fernández, quienes nos guiaron y
brindaron todas las herramientas para llegar a este día.

Tabla de contenido

	Página
1. Resumen	8
2. Descripción	10
2.1 Pregunta de investigación	10
2.2 Justificación	10
2.3 Planteamiento del problema	13
3. Marco teórico	13
4. Objetivos	19
4.1 Objetivo general	19
4.2 Objetivos específicos	19
5. Metodología	19
5.1 Tipo de estudio	19
5.2 Población de referencia	19
5.3 Criterios de inclusión	20
5.4 Criterios de exclusión	20
5.5 Procedimiento de investigación	20
5.6 Diseño muestral	21
5.6.1 Muestreo	21
5.6.2 Tamaño de muestra	21
5.7 Variables	22
5.8 Técnicas de recolección de información	29

5.8.1 Procesamiento de la información	29
5.9 Control de sesgos	29
5.10 Técnicas de procesamiento	30
5.11 Consideraciones éticas	32
5.12 Administración del proyecto	35
5.12.1 Cronograma	35
5.12.2 Presupuesto general	36
6. Resultados	37
6.1 Alteraciones del glicocálix endotelial según el tipo de cristaloides	38
6.2 Alteraciones de los biomarcadores según el tipo de cristaloides	41
6.3 Alteraciones clínicas de interés según el tipo de cristaloides y daño al glicocálix	43
7. Discusión	47
8. Conclusiones	50
9. Bibliografía	52
10. Anexos	56

Lista de tablas

	Página
Tabla 1. Principales artículos de daño del glicocálix en sepsis y aumento de la permeabilidad vascular	16
Tabla 2. Clasificación de las variables incluidas en el estudio	22
Tabla 3. Tipos de variables en el estudio	23
Tabla 4 Características basales de la población estudiada.	37
Tabla 5. Valores de PBR en los diferentes tiempos de medición y según tipo de solución de cristaloides utilizada.	40
Tabla 6. Análisis multivariado de los factores asociados con las alteraciones al glicocálix endotelial	47

Lista de figuras

	Página
Figura 1. Metodología y proceso de la investigación	21
Figura 2. Comportamiento del PBR según el tipo de solución utilizada en los diferentes tiempos de medición.	39
Figura 3. Niveles de Biomarcadores plasmáticos según el tipo de solución en los diferentes tiempos de medición. A. Syndecan-1. B. Angiopietina -2. C. Anexina A-5.	42
Figura 4. Alteraciones del glicocálix endotelial a las 6 horas de recibir bolo de cristaloides. A. Nivel de PBR en pacientes con acidosis metabólica. B. Proporción de alteración del syndecan-1 en niños con acidosis metabólica. C. Nivel de PBR en según nivel de cloro. D. Correlación entre niveles de PBR y albúmina.	44

1. Resumen

Objetivo general:

La reanimación hídrica es fundamental en niños con sepsis con inestabilidad hemodinámica. No se conoce la interacción entre los cristaloides usados en forma de bolos con la microcirculación. Se buscó estimar las alteraciones de la integridad del glicocálix y el endotelio según el tipo de cristaloides utilizado para reanimación hídrica.

Diseño:

Estudio observacional analítico de cohortes prospectivo.

Materiales y Métodos:

Se incluyeron niños críticos de 1 mes a 18 años, con diagnóstico de sepsis, que a criterio del médico necesitaban reanimación hídrica con cristaloides. Se realizó la medición del glicocálix endotelial con videomicroscopía sublingual (medido con el índice PBR -siglas en inglés *perfusión boundary region*-), biomarcador plasmático de daño endotelial (Angiopietina-2 [Ang-2]) y apoptosis (anexina A4) antes y después de recibir bolos de cristaloides.

Resultados

La investigación se llevó a cabo desde enero hasta diciembre de 2021. Se incluyeron 106 niños, la mediana de edad fue 3.9 años (RIQ 0.60-13.10). De estos, 48 niños (45.2%) recibieron soluciones balanceadas (SB) y 58 (54.7%) soluciones no balanceadas (SNB). El 73.3% (77/106) tenían alteración de la videomicroscopía (PBR mayor a 2.0 μ m), antes de recibir bolos de cristaloides. En los niños con choque séptico encontramos mayor riesgo de daño del GE (80% vs 65%; OR 2.2 IC95% 0.92-5.3;p=0.07). El grupo de SNB tenían mayor degradación del GE (84.5% vs 60.4%; aOR 3.82: IC95% 1.51– 9.67; p < 0.01) a las 6 horas de ser administradas que se correlaciono con aumento de Ang-2 (rho 0.4; p < 0.05) y elevación de anexina A5 (6.5 ng/mL [RIQ 0.7 – 10.6] vs 0.10 ng/mL [RIQ 0.0 - 6.4] ;p = 0.04) comparado con quienes recibieron SB.

Conclusiones:

En niños con sepsis, existe una alteración importante de la integridad del glicocálix endotelial, la cual empeora con el uso de soluciones no balanceadas utilizadas en reanimación hídrica que se asocia a alteraciones de biomarcadores de daño endotelial y apoptosis.

Palabras clave: matriz extracelular, choque séptico, endotelio, fluidoterapia, proteoglicanos.

2. Descripción

2.1 Pregunta de investigación

¿Cuál es el efecto sobre el glicocálix (GE) y el endotelio de la reanimación hídrica con soluciones no balanceadas en niños con sepsis y choque séptico que ingresan a cuidado intensivo pediátrico entre enero del 2021 y diciembre del 2021?

2.2 Justificación

La sepsis es un síndrome clínico caracterizado por la presencia de disfunción orgánica secundaria a la respuesta inmune tanto adaptativa como innata desreguladas del huésped. Esta a su vez puede derivar en choque séptico, el cual se caracteriza por la presencia de alteraciones celulares, circulatorias y metabólicas que se asocian con un mayor riesgo de morbimortalidad.^{1,2}

La sepsis es una de las principales causas de morbimortalidad en la población infantil. A nivel mundial se considera que es responsable del 25% de la carga global de morbilidad, generando 6,3 muertes por cada 1000 niños menores de 5 años, con una tasa de letalidad del 25% y una tasa de mortalidad que oscila entre 4-50%. Según la revisión sistemática y metaanálisis realizados por Tan y cols, las tasas de letalidad por sepsis pediátrica son más bajas en países desarrollados (19,3% [IC 95%, 16,4%-22,7%]) que en aquellos países en desarrollo (31,7% [IC 95%, 27,3%-36,4%]; $P < 0.001$).³⁻⁵ En Colombia contamos con el estudio prospectivo multicéntrico realizado por Jaramillo y cols quienes documentaron que en las primeras 24 horas de ingreso a la UCIP el 25% y 48% de los pacientes cumplían criterios para diagnóstico de sepsis y choque séptico, respectivamente.⁶ Es claro entonces que los datos de morbimortalidad en sepsis son abundantes a nivel mundial y permiten establecer a esta condición como un problema de salud pública.

Las guías de la campaña internacional sobreviviendo a la sepsis publicadas en 2020 definieron sepsis asociada a disfunción orgánica como la presencia de infección grave que conduce a una disfunción cardiovascular o de órganos no cardiovasculares, y choque séptico como la infección grave que conduce a disfunción cardiovascular, esta última caracterizada por la presencia de hipotensión, alteración de la perfusión o necesidad de tratamiento con vasoactivos.² El consenso Latinoamericano de Sepsis en niños

recientemente publicado describe la sepsis como esa respuesta no regulada del huésped a una infección. Se considera choque séptico cuando existen alteraciones metabólicas, celulares y hemodinámicas asociados a la sepsis.³

Los efectos de la respuesta inadecuada a la infección conducen a la disfunción celular y progresivamente a una falla orgánica. Las alteraciones en cada sistema pueden variar desde una disfunción leve hasta una insuficiencia orgánica completa. A continuación, enunciamos las más relevantes.

La enfermedad renal aguda es una de las principales complicaciones de la sepsis, presente hasta en el 60% de los pacientes sépticos. Diferentes factores han sido implicados, principalmente la cascada inflamatoria, la hipovolemia y la exposición a nefrotóxicos. Aunque la lesión de células tubulares y la expresión de marcadores como KIM-1 son comunes, la inflamación y la apoptosis desempeñan un papel importante a nivel de la disfunción macrovascular y microvascular y la desregulación inmunológica y autonómica. La presencia de lesión renal es un marcador de mal pronóstico, pues los pacientes con sepsis complicada por esta condición tienen una mortalidad significativamente mayor en relación con los pacientes que no la presentan.^{7,8}

También se conoce que durante la defensa del huésped a la infección se produce activación de la coagulación e inflamación. Engelman y Massberg establecieron el término "inmuntrombosis", como la interacción entre la coagulación y la inmunidad innata. En la sepsis, se puede producir la activación del sistema de coagulación derivando en coagulación intravascular diseminada, la cual se asocia con disfunción orgánica y/o sangrado. Los patrones moleculares asociados a patógenos inducen la expresión del factor tisular en monocitos y macrófagos al unirse a receptores que reconocen patrones en las células inmunes. El factor tisular en conjunto con los factores de coagulación, el factor VIIa, el factor Xa, la trombina y la fibrina inducen respuestas proinflamatorias a través de receptores activados por proteasa.^{9,10} Saito y cols, documentaron coagulopatía inducida por sepsis en 29% de los pacientes con sepsis tratados en unidades de cuidados intensivos.¹¹

Por otra parte, la incidencia de insuficiencia hepática asociada a la sepsis es difícil de estimar, pero se sabe que su instauración se relaciona con peores resultados en los pacientes. Durante la sepsis no solo la infección en sí es responsable de la disfunción hepática, sino también la hiperreactividad de la respuesta inflamatoria, la insuficiencia microcirculatoria y los hepatotóxicos.¹²

De igual manera, la encefalopatía asociada a la sepsis se presenta como consecuencia de una disfunción cerebral difusa que acompaña a la sepsis en ausencia de infección directa del sistema nervioso central, alteración estructural u otros tipos de encefalopatía. Se considera que es la principal causa de encefalopatía en cuidado intensivo, más de la mitad de los pacientes con sepsis presentan el síndrome de encefalopatía asociada a sepsis, el cual se relaciona con peores desenlaces clínicos.¹³

Los pacientes sépticos frecuentemente requieren reanimación hídrica pues presentan hipovolemia secundaria a la vasodilatación vascular y a la fuga de líquidos fuera del espacio intravascular secundario al daño del glicocálix. Esta es una capa rica en carbohidratos de carga negativa que cubre la cara luminal de todos los vasos sanguíneos de la economía corporal. Es responsable de mantener el equilibrio entre los líquidos del espacio intravascular y el intersticial entre otras funciones. No conocemos cómo se afecta en su integridad cuando el microambiente endotelial se expone a bolos de fluidos en la reanimación hídrica.

Cuando se utilizan fluidos con este objetivo, se ha descrito la utilidad de los coloides y los cristaloides. Es supremamente conocido y ya demostrado en múltiples ensayos clínicos aleatorizados cómo los coloides se relacionan con mayor incidencia de insuficiencia renal, necesidad de técnicas de soporte renal e incluso mayor mortalidad. Por tal motivo, se ha considerado a los cristaloides los líquidos más adecuados para realizar la reanimación hídrica. Con respecto a éstos, en los últimos años se han publicado varios estudios comparando la solución salina al 0.9% con los cristaloides balanceados, entre ellos el estudio SMART realizado en población de adultos en el cual se observó un mejor resultado en pacientes que recibieron reanimación hídrica con cristaloides balanceados, dado que la reanimación hídrica con cristaloides no balanceados se relacionó con mayor incidencia de acidosis metabólica hiperclorémica, lesión renal aguda, inflamación sistémica persistente y muerte.^{2,7,8} Recientemente, Fernández-Sarmiento y cols realizaron un estudio de cohortes en niños en el que encontraron que los pacientes con sepsis asociada a disfunción orgánica y choque séptico que recibieron bolos con soluciones balanceadas tuvieron menor riesgo de desarrollar lesión renal aguda en las primeras 48 horas de ingreso a UCIP, esto también asociado con menor requerimiento de terapia de soporte renal y menos días de hospitalización en UCIP.¹⁴

2.3 Planteamiento del problema:

Dado la frecuencia de presentación de la sepsis y los desenlaces inadecuados debemos realizar investigaciones que permitan perfeccionar las diferentes intervenciones terapéuticas. No se conoce cual es la interacción del tipo de cristaloides utilizado con la microcirculación. Los resultados hasta el momento de ensayos clínicos y estudios observacionales son contradictorios con respecto a qué tipo de solución para reanimación se debe utilizar entre adultos y niños.^{15,16} No se conoce la interacción de las diferentes soluciones sobre el endotelio y su glicocálix. No se conoce si el uso de soluciones no balanceadas afecte el microambiente endotelial y esto tenga consecuencias clínicas. Con frecuencia se ha descrito la asociación entre el uso de soluciones no balanceadas y la presencia de acidosis metabólica hiperclorémica. No se conoce el efecto de esta acidosis sobre el glicocálix endotelial y si éste pueda tener consecuencias clínicas importantes. Tampoco conocemos si el tipo de solución afecta el endotelio y si puede existir o no inicio de muerte celular asociado al tipo de solución.

3.0 Marco teórico

La pared del vaso está compuesta por tres capas, la más externa es una red de tejido conectivo, la cual en vasos grandes contiene la "vassa et nervi privata". Seguido de esto, encontramos la túnica media que contiene los miocitos vasculares, siendo esta la capa más prominente en arterias que en venas. La parte más interna es llamada la túnica íntima y está compuesta por las células endoteliales, conectadas unas con otras a través de uniones estrechas.¹⁵

El revestimiento de las células endoteliales es un sistema celular único que recubre el interior de los vasos sanguíneos y forma una interfaz entre la sangre y las células parenquimatosas. Es esencial para la regulación de la hemostasis, el control vasomotor y la función inmunológica. La integridad del endotelio está determinada por su citoesqueleto y por el glicocálix endotelial.¹⁶ El glicocálix endotelial (GE) es una fina capa que recubre el interior de todos los vasos sanguíneos, formando una interfase entre las células endoteliales y el flujo sanguíneo. Inicialmente fue descrito por Luft en 1966, mediante su observación en microscopía electrónica. Su espesor varía entre 0.1 a 1 micrón, dependiendo de su localización y del vaso sanguíneo.¹⁷⁻²¹

Está compuesto por proteoglicanos, glicosaminoglicanos y glicoproteínas. Los proteoglicanos tienen un esqueleto proteico que está conectado a las cadenas con carga negativa de los glicosaminoglicanos.¹⁷ Del primer componente, aproximadamente 50-90% corresponde a proteoglicanos de heparán sulfato (syndecan, glypican, perlecan), estos son considerados el sostén principal del glicocálix. Los glicosaminoglicanos son polímeros largos de cientos y miles de unidades de disacáridos con carga negativa, que son hidrofílicos. Dentro de los glicosaminoglicanos se encuentra heparan sulfato, condroitín sulfato, dermatán sulfato y queratán sulfato. Los sulfatos y los glicosaminoglicanos son quienes le proveen la carga negativa, permitiendo la interacción electrostática con las proteínas del plasma. El ácido hialurónico, no sulfatado, no provee una carga negativa, sin embargo, interactúa con otros proteoglicanos para retener agua y estabilizar la estructura del glicocálix.^{3,18}

Ese revestimiento de células endoteliales forma una barrera que es permeable para pequeñas moléculas y electrolitos, otras moléculas como la albúmina son alejadas hacia el lumen vascular por el glicocálix.¹⁹ Esto significa que el glicocálix es crucial para el mantenimiento de la presión oncótica vascular, teniendo en cuenta la fórmula de Starling actualizada, este representa un determinante primario para la filtración transcipilar.^{15,20} El GE controla en contacto entre el endotelio y las plaquetas y leucocitos, repele las células sanguíneas de las paredes del vaso con sus cargas negativas, controla también la exposición a la molécula de adhesión endotelial plaquetaria (PECAM), la molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) y la molécula de adhesión intercelular (ICAM). Durante la inflamación, todas estas moléculas quedan expuestas de forma que puedan interactuar con monocitos y neutrófilos. Abundantes mediadores de la coagulación tienen contacto estrecho con el GE, como la antitrombina III, el factor IX y el factor X. el dermatán sulfato por ejemplo estimula el cofactor II de la heparina, la trombomodulina que es un derivado de las células endoteliales, interactúa con la trombina para activar la cascada anticoagulante de la proteína C.⁴

Uno de los principales reguladores de las funciones de las células endoteliales está representado por el shear y estrés mediado por el flujo sanguíneo, así como su mecanotransducción al citoesqueleto. La mecanotransducción hace referencia al proceso de sensado de la presión y fuerzas de shear y stress en el microambiente vascular y su transformación a señales biológicamente activas.²⁰ El GE actúa como un transductor físico

de estas señales, mediando las respuestas secundarias como la liberación de óxido nítrico (NO).⁴

La mejoría en las técnicas para su visualización in vivo, ha permitido caracterizar los cambios del glicocálix durante la sepsis, observando disminución de su grosor secundaria a digestión enzimática, efecto del lipopolisacárido y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α).⁶ Kataoka y cols, demostraron que la destrucción del glicocálix lleva a un aumento de la permeabilidad a macromoléculas y adhesión leucocitaria en la microcirculación. Estos cambios contribuyen a alteraciones en la reología de la microvasculatura, afectando el flujo sanguíneo capilar y la perfusión tisular.²¹

Existen varias formas para objetivar la disfunción endotelial, una de ellas incluye la medición de biomarcadores incluyendo productos de degradación del glicocálix, moléculas de adhesión, la angiopoyetina-2, proteínas de la cascada de coagulación y de la vía fibrinolítica/antifibrinolítica.⁶ Los niveles elevados de TNF α durante sepsis contribuyen al daño del GE a través de la actividad de las metaloproteinasas de matriz y así la pérdida de syndecan. En estudios experimentales en modelos humanos, una dosis baja de endotoxinas, resultó en una reducción significativa del espesor del GE, así como una elevación plasmática de los productos de degradación del glicocálix. Se han estudiado diversos biomarcadores del daño del glicocálix como marcadores de sepsis, entre ellos, syndecan 1, HS y HA. En sepsis la disintegrina A, metaloproteinasas 15, heparanasa y la metaloproteinasas 2/9 se ha implicado en el daño del GE.¹⁵

Los niveles circulantes de Syndecan-1 están relacionados con el daño endotelial y la degradación del glicocálix. En modelos animales, mediante microscopía electrónica, se demostró el desprendimiento del glicocálix y la consecuente pérdida del Syndecan-1 en modelos de isquemia reperusión. Los niveles de Syndecan-1 se han correlacionado con coagulopatía y mayor mortalidad en pacientes con sepsis.²³ En el estudio de Steppan y cols se midieron los niveles de Syndecan-1 en 104 pacientes con sepsis o choque séptico y en 28 pacientes sometidos a cirugía abdominal y 18 controles sanos. Se encontraron niveles más elevados de Syndecan-1 en los pacientes con sepsis y los sometidos a cirugía abdominal, además se correlacionó con los niveles de IL-6.⁹

El endocan es un proteoglicano soluble que se libera durante la respuesta inflamatoria, considerándose un potencial biomarcador de la disfunción endotelial en sepsis. En un

estudio con 150 pacientes con diagnóstico de sepsis o choque séptico tenían niveles más elevados de endocan y una mayor mortalidad por cualquier causa al día 30.²⁴

Las angiopoyetinas pertenecen a un grupo de factores de crecimiento que desempeñan un papel importante durante la respuesta inflamatoria. Ang-1 es crucial para la estabilidad de los vasos sanguíneos, de otra parte, la Ang-2 desestabiliza la integridad vascular y aumenta la permeabilidad.²⁵ De este modo la Ang-2 refleja la ruptura de la barrera vascular en pacientes críticamente enfermos. En el estudio de Ricciuto y cols, encontraron que los mayores niveles de Ang-2 se relacionaban con mayor mortalidad al día 28 y a disfunción orgánica múltiple.^{26,27}

La valoración del endotelio no es fácil debido a su inaccesibilidad. Los estudios clínicos se han limitado a la medición de los biomarcadores que se liberan durante su degradación, de estos el más estudiado es el syndecan-1. La microscopía sublingual es usada de forma frecuente por ser accesible y de fácil medición, esta nos permite realizar una medición del grosor del glycocalix, sus dimensiones son calculadas principalmente mediante la región límite perfundida (PBR *perfused boundary región*), la cual es inversa al grosor de este.²⁸⁻³⁰

Tabla 1. Principales artículos de daño del glicocálix en sepsis y aumento de la permeabilidad vascular

Autor	Tipo de estudio	Población a estudio	Año	Tamaño de muestra	Objetivo	Medida del glicocálix	Conclusiones
Rehm M et al	Animal	Cerdos de guinea: Peso 200-250 gr	2004	17	Evaluar el impacto en el glicocálix de la extravasación de infusiones de coloides.	Microscopía electrónica.	El glicocalix endotelial actúa como barrera para el agua y coloides.
Alfieri A et al	Animal	Ratónese (7-10 semanas)	2012	24	Investigar los efectos agudos de un derivado de la angiopoyetina-1 sobre la microcirculación	Microscopía Intravital	Existe protección de la macrocirculación en modelos de sepsis luego de la administración de Ang-1 en modelos de endotoxemia que

					en modelo de sepsis y su asociación con respuesta inflamatoria		induce disfunción vascular. Reduce inflamación sin efectos proangiogénicos
Mochizuki S	Animal	Perros adultos (Peso 10–32 kg)	2003	31	Investigar el papel del glicocalix como sensor y disparador mecánico de la producción de óxido nítrico en respuesta a fuerzas de shear-stress endotelial	Concentración de óxido nítrico	Los glicosaminoglicanos juegan un papel en la detección y amplificación de las fuerzas de shear-stress derivado del óxido nítrico.
Van Haaren PMA et al	Animal	Ratas (peso 200-250 gr)	2003	24	Determinar las propiedades de transporte de solutos y permeabilidad endotelial del glycocalyx.	Microscopía Intravital	Ocurre daño del glicocalix durante estrés oxidativo.
Schmidt EP et al	Animal	Ratón	2012	43	Daño del glicocalix endotelial se asocia con inflamación y fuga capilar en modelo de sepsis	Microscopía intravital	La degradación del glicocalix endotelial aumenta expresión de moléculas de adhesión de superficie endotelial y favorece la adhesión de neutrófilos así como fuga capilar.
Steppan J et al	Humano	Adultos	2011	150	Evaluar el daño del glycocalyx en pacientes con sepsis comparado con voluntarios sanos y pacientes	Biomarcadores inflamatorios y de daño de glycocalyx: ICAM-1, VCAM-1, IL-6, syndecan-1, heparan sulfato.	En pacientes con sepsis después de cirugía abdominal mayor se encontraron elevados niveles de biomarcadores de daño del glycocalyx

					después de cirugía abdominal mayor.		lo que podría explicar el síndrome de fuga capilar.
Rovas A et al	Humano	Adultos	2019	40	Investigar la asociación entre dimensiones del glicocálix y parámetros de microcirculación y disfunción en sepsis.	Videomicroscopia sublingual	Daño del glicocalix ocurre independientemente del compromiso de la microcirculación. Se necesitan estudios en pacientes críticos que vean cuál es el papel de diferentes soluciones sobre el glicocálix.
Kataoka H et al	Animal	BALB/c mice (8-10 semanas peso 24 to 28 gr)	2017	26	Evaluar el glicocalyx endotelial en un modelo in vivo de sepsis	Microscopía intravital	Sepsis severa induce daño del glicocálix y aumento del syndecan-1
Hippensteel J et al	Humano	Adultos	2019	100	La degradación del glicocalix se asocia al volumen de reanimación hidrica en sepsis.	Heparan sulfato, syndecan-1	La degradación del glicocalix ocurre en sepsis y se asocia a mortalidad. El volumen de fluidos endovenosos en reanimación se asocia de forma independiente a mayor daño del glicocálix.

4.0 Objetivos

4.1 Objetivo general

1. Estimar el efecto sobre el glicocálix endotelial de la reanimación hídrica con soluciones no balanceadas en niños con sepsis que ingresan a la unidad de cuidado intensivo pediátrico de La Cardio entre enero del 2021 y diciembre del 2021.

4.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar la población de estudio en términos demográficos, comorbilidades y biomarcadores inflamatorios.
2. Estimar el grado de alteración del glicocálix endotelial con videomicroscopía sublingual en niños con sepsis que ingresan a cuidado intensivo pediátrico, antes y después de recibir reanimación hídrica con soluciones no balanceadas por inestabilidad hemodinámica.
3. Evaluar el grado de activación y permeabilidad endotelial así como de inicio de muerte celular programada utilizando biomarcadores plasmáticos antes y después de los bolos de cristaloides.
4. Explorar la asociación entre el grado de alteración del glicocálix endotelial y acidosis metabólica hiperclorémica antes y después de recibir reanimación hídrica con soluciones no balanceadas.

5.0 Metodología

5.1 Tipo de estudio

Observacional, analítico de cohortes prospectivo.

5.2 Población de referencia

Pacientes pediátricos de 1 mes a 18 años de edad que se encuentren hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos de la Fundación Cardioinfantil - Instituto de Cardiología entre enero del 2021 y diciembre del 2021, con diagnóstico de sepsis y choque séptico.

5.3 Criterios de inclusión

- Niños de 1 mes a 18 años de edad con diagnóstico de sepsis y choque séptico que a criterio del médico tratante necesitan reanimación hídrica por inestabilidad hemodinámica.
- Hospitalizados en la UCI Pediátrica de La Cardio bajo soporte con ventilación mecánica y efectos de sedación, analgesia.
- Cuyos representantes legales acepten su inclusión en el estudio, expresado a través de la firma del consentimiento informado de la investigación.

5.4 Criterios de exclusión

- Pacientes con historia de diabetes, hiperkalemia o trauma craneoencefálico.
- Pacientes con volumen de sangre insuficiente o que no se puedan tomar para procesar las muestras del laboratorio.
- Postoperatorio de cirugía cardiovascular por cardiopatías congénitas.
- Pacientes que han recibido bolo de cristaloides en las últimas 24 horas con sepsis y choque séptico.

5.5 Procedimiento de investigación.

Una vez el paciente cumplía criterios de inclusión y los padres habían firmado consentimiento para ingreso a la investigación, fueron incluidos en el estudio. Cuando el médico tratante consideró por inestabilidad hemodinámica colocación de bolo de cristaloides se procedió a tomar inmediatamente antes las muestras de biomarcadores, tomar la medición de la videomicroscopía (tomó 2 minutos) y se aplicó el bolo de cristaloides. Por protocolo institucional, se colocan bolos de cristaloides de acuerdo a la recomendación del consenso de sepsis que es cuando se evidencia inestabilidad hemodinámica por marcadores clínicos de bajo gasto cardíaco (taquicardia con hipotensión, llenado capilar prolongado, pulsos débiles o deshidratación). Igualmente por protocolo institucional en niños se utilizan en todos los pacientes bolos con un volumen de 20 cc/kg y el médico a su criterio decide que tipo de solución utiliza (balanceada o no balanceada). Los médicos de turno no participaban en la investigación y no se atraso en ningún caso la administración de los cristaloides ni la atención del paciente por ser incluido en esta investigación.

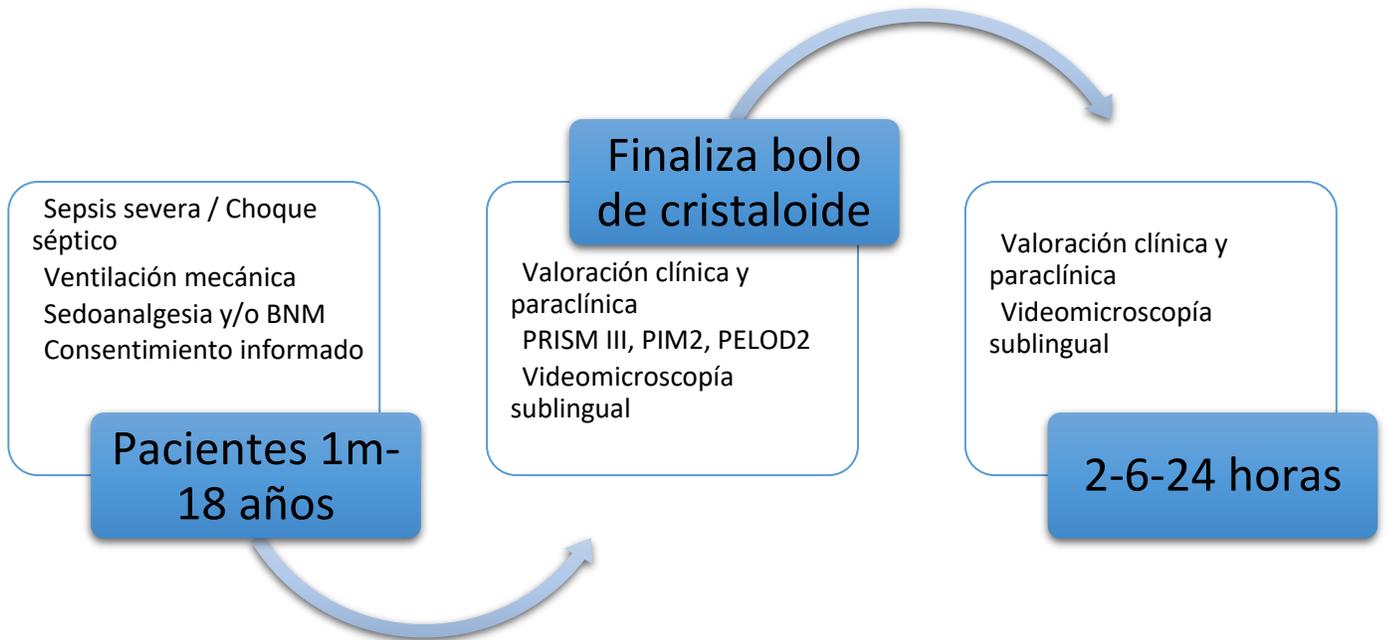


Figura 1. Metodología y proceso de la investigación

5.6 Diseño Muestral

5.6.1 Muestreo: trabajaremos con el censo de los pacientes con sepsis que ingresen en el periodo del estudio.

5.6.2 Tamaño de la muestra

Serán incluidos niños con sepsis que ingresen con sepsis y choque séptico que a criterio del médico tratante requiera un bolo de cristaloiide. La unidad de análisis será el tipo de cristaloiide utilizado y el parámetro a detectar será el riesgo de daño del glicocalix medido con la razón de momios (OR). Para una potencia del 80% y una confianza del 95% de acuerdo al trabajo de Steppan y cols quienes consideran que en su grupo de pacientes con sepsis tenían al menos un 25% de mayor alteración del glicocálix endotelial en los pacientes sépticos comparados con sus controles sanos, se considera que se requieren 92 pacientes

en el estudio. Se incluirán 46 niños en el grupo de expuestos (soluciones no balanceadas) y 46 en el grupo de pacientes no expuestos (soluciones balanceadas). En vista de que se hará seguimiento prospectivo, se hizo cálculo de muestra ampliada y se considera que se incluirán 102 pacientes (10% de pérdida) para los pacientes que pueden tener datos incompletos.

5.7 Variables

Tabla 2. Clasificación de las variables incluidas en el estudio

Variables confusoras	Variable Independiente	Variables Dependientes
Variables generales - Edad - Peso Variables clínicas - Vasoactivos - Glucemia Variables de severidad - Escala PIM-2	Medición de la videomicroscopía sublingual in vivo evaluando el PBR*.	Delta de índice PBR en periodo de medición Variables paraclínicas - Hemodinámica: Lactato - Bicarbonato sérico - Función renal: BUN, Creatinina - Electrolitos: sodio, potasio, cloro - Inflamación: Ferritina, PCR.

*PBR: *perfusión boundary region*. El PBR es la medida de daño del glicocálix endotelial usando videomicroscopía sublingual como se describió en marco teórico.

Tabla 3. Tipos de variables en el estudio

Variable	Definición	Naturaleza	Unidad de medida y nivel de medición	Objetivos específicos
Variables Sociodemográficas				
Edad	Tiempo desde el nacimiento hasta la inclusión del estudio.	Cuantitativa razón	Meses-años	1
Peso	Peso en kilogramos	Cuantitativa razón	kilogramos	1
Talla	Talla en centímetros	Cuantitativa razón	centímetros	1
Procedencia	Lugar de residencia habitual.	Cualitativa Nominal Politómica	1. Bogotá 2. Cundinamarca 3. Otros	1
Régimen de afiliación al sistema de salud.	Característica de la población en afiliación a EPS,	Cualitativa Nominal politómica	1. Contributivo 2. Subsidiado 3. Prepagada	1
Variables de biomarcadores de daño endotelial				
Syndecan 1	Producto de degradación del glicocálix endotelial.	Cuantitativa razón	ngr/ml	2

Syndecan 4	Producto de degradación del glicocálix específicamente	Cuantitativa razón	ngr/ml	2
Caveolina-1	Marcador de daño en integridad endotelial.	Cuantitativa razón	ngr/ml	2
Anexina A5	Marcador de apoptosis.	Cuantitativa razón	ngr/ml	2
Medición in vivo de la microcirculación: Índice PBR	Índice de perfusión límite del glicocalix. Distancia medida en micras desde glóbulo rojo hasta pared vaso.	Cuantitativa de razón.	Micras	2
Variables de severidad de enfermedad				
Sepsis	Síndrome de respuesta inflamatoria asociada a infección.	Cualitativa Ordinal	1.Sepsis 2.Sepsis severa 3.Choque séptico	General

Sepsis severa	Sepsis asociada a disfunción de órgano respiratorio, cardiovascular u otro.	Cualitativa Nominal politómica	1. Respiratorio 2. Cardiovascular 3. Gastrointestinal 4. Renal 5. Otros	General
Choque séptico	Sepsis severa 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
Escala de PIM II	Escala validada en niños de evaluación de severidad al ingreso.	Cuantitativa de intervalo		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: $70 + 2 \times \text{edad}$	Cuantitativa razón	mm/Hg	1

	>10a: 90			
Soporte vasoactivo evaluado con el score vasoactivo (VIS).	Necesidad de medicamentos vasopresores para sostener presión arterial mayor p5.	Cuantitativa continua	VIS= dosis dopamina (mcg/k/min) + dosis dobutamina (mcg/k/min) + 100 x adrenalina (mcg/k/min) + 10 x dosis milrinone (mcg/k/min) + 10.000 x dosis vasopresina (U/kg/min) + 100 x dosis noradrenalina (mcg/k/min).	1
Tiempo de aplicación de cristaloiide.	Periodo de tiempo de aplicación del cristaloiide.	Cuantitativa continua	Tiempo en minutos	General-4
Bolo de cristaloiide.	Aplicación de cristaloiide en menos de 60 minutos a dosis de 10-20 cc/kg.	Cuantitativa razón discreta	1. 10 cc/kilo 2. 20 cc/kg	General-4

Tipo de solución utilizada.	Solución que se utiliza para reanimación hídrica.	Cualitativa Nominal politémica	1. Lactato de ringer. 2. Plasmalyte 7.4 3. SSN 0.9%	General -4
Foco infeccioso	Lugar de origen de la infección.	Cualitativa nominal politémica	1. Respiratorio 2. Sangre 3. Digestivo 4. Urinario 5. SNC	1,6
Creatinina	Alteración función glomerular según la edad con la fórmula de Schwartz: creatina máx= talla x ctte/ 80 Ctte: 0.45 <1 a Ctte 0.55 > 1 a	Cuantitativa razón	Mgr/dl	4
Nitrógeno ureico	Alteración de la función glomerular conocida como BUN	Cuantitativa razón continua	Mgr/ dl	4
Sodio sérico	Cantidad de este electrolito medido en las gases sanguíneos	Cuantitativa razón	Mq/lit	4

Potasio sérico	Cantidad de potasio en sangre medido en gases sanguíneos.	Cuantitativa razón	Mq/lit	4
Cloro sérico	Cantidad de cloro en sangre medido en gases sanguíneos.	Cuantitativa razón	mq/lit	4
Bicarbonato sérico	Cantidad de bicarbonato en sangre medida con gases sanguíneos.	Cuantitativa razón	Mmol/lit	1. 4
Lactato sérico	Presencia de lactato en sangre medida por gases sanguíneos	Cuantitativa razón	Mmol/lit	4
Ferritina	Niveles de proteína de síntesis hepática	Cuantitativa continua	Mgr/dl	4
Proteína C reactiva	Proteína reactante de fase aguda indicando activación de IL-1 y de IL-6	Cuantitativa continua	Mgr/dl	4

5.8 Técnicas de recolección de información

5.8.1 Proceso de obtención de la información

Se realizó la medición de la microcirculación sublingual utilizando un videomicroscopio de luz polarizada (Capiscope) antes de la administración del bolo de líquidos y posteriormente a las 2h, 6h y 24 horas de la administración. Para la medición se siguió las indicaciones del fabricante y las recomendaciones internacionales de consenso de videomicroscopia sublingual.³⁰ Previo a la medición se realizó la firma del consentimiento informado por parte de alguno de los padres del paciente.

5.9 Control de errores y sesgos

El sesgo de selección se controló definiendo la población de estudio de referencia, que corresponde a pacientes que cumplan los criterios del consenso mundial del 2005 de Goldstein para sepsis severa y choque séptico y que de acuerdo al criterio del médico tratante requieran reanimación hídrica durante su estancia en la UCIP y que cumplan con los criterios de inclusión y no con los de exclusión.

Existe una baja probabilidad de presentación del sesgo por sobrerrepresentatividad (falacia de Neyman) dado que los pacientes no presentan estancia hospitalaria prolongada. La toma de muestras a los pacientes se realizará inmediatamente antes de colocar el bolo de cristaloides e inmediatamente después, y se incluirán sólo los pacientes que 24 horas antes no hayan recibido bolos de cristaloides.

El sesgo de selección y las pérdidas (desgaste de la muestra) se controló asegurando que el tiempo de seguimiento sea corto (no más de 24 horas) y se extremaron medidas para minimizar la pérdida de datos. Con estas estrategias de control de sesgo de selección se buscó evitar una baja precisión, no afectar la potencia ni encontrar asociaciones falsas (validez interna), y por lo tanto, tener adecuada validez externa.

En relación al sesgo de información, esta se diligenció en el formato de recolección destinada para tal fin por parte de la enfermera jefe de turno subespecialista en cuidado intensivo a cargo del paciente y quien previamente ha recibido información sobre las guías de manejo de buenas prácticas clínicas exigidas por la Joint Commission International y también sobre los pormenores del estudio. De igual manera, el personal médico encargado de realizar las mediciones de la microscopia sublingual recibió una capacitación previa

sobre el adecuado uso y los parámetros establecidos por el consenso de videomicroscopía sublingual para realizar mediciones confiables y de alta calidad.

Para el procesamiento de los datos, los datos diligenciados en el instrumento de recolección fueron transcritos a un instrumento de recolección en Excel, con el cual se construyó la base de datos del estudio, y se usaron medidas estándar y numéricas de codificación. La base de datos fue diligenciada por el personal médico encargado de realizar las mediciones y que también recibió capacitación en todo lo concerniente a los procesos de transcripción de la información. Con estas estrategias de control de sesgo de información se buscó no alterar la precisión de los datos, no encontrar asociaciones erradas y por lo tanto, tener adecuada validez interna y externa.

En relación con el control de la confusión este se controló a través del adecuado establecimiento de los criterios de inclusión y exclusión por el tipo de diseño observacional de la investigación. Fueron considerados como factores de confusión todas las variables descritas en la literatura que tienen asociación con las variables dependientes tanto de medición *in vivo* como con los biomarcadores. Durante la fase de análisis se realizó una estandarización para el control de las variables confusoras y análisis multivariado, como está descrito en el plan de análisis de resultados. Con las estrategias previamente mencionadas se buscó controlar la confusión para no tener asociaciones falsas y/o alteración de las asociaciones existentes que afecten la validez interna y por ende la validez externa.

5.10 Técnicas de procesamiento y análisis de los datos

En primer lugar, se realizó un análisis univariado en donde las variables cualitativas fueron presentadas en términos de sus frecuencias absolutas y relativas. Por otra parte, las cuantitativas fueron presentadas de acuerdo con su distribución (normal o no normal) en medidas de tendencia central, dispersión y posición. Esta información, se presentó en una tabla en la que se consignaron los datos demográficos, las covariables tales como líquidos balanceados y no balanceados, así como las de desenlace, por ejemplo, los niveles de biomarcadores (lactato, ferritina, etc). Se describió las variables de confusión que se muestran en el ítem 5.3.1 de la metodología, como la severidad de la condición, que se medirá con la escala PIM-2, así como score vasoactivo y glucemia.

Se consideró que estas son variables de confusión porque están relacionadas con la severidad de la enfermedad. Estudios previos han demostrado que cuanto más severa la sepsis, más compromiso multiorgánico existe y mayor lesión del glicocálix puede ocurrir.³¹ Por esta razón la escala PIM-2 de severidad se consideró una variable confusora. Igualmente, el score vasoactivo. Cuando un paciente tiene más alto soporte vasopresor, más comprometido está, más severa es su enfermedad y por ende más dañado puede tener el glicocálix y este daño puede no permitir detectar si usar una solución balanceada o no balanceada afecta o no el glicocálix. Igualmente, la glucemia, porque se ha descrito que en pacientes con diabetes el glicocálix se encuentra alterado y no sabemos si usar una solución balanceada o no balanceada puede afectar en mayor o menor medida.

Posteriormente, se realizó un análisis bivariado para cumplir el objetivo número 2. Aquí la variable exposición fue el daño basal del glicocálix establecido con la videomicroscopía sublingual no invasivo y calculado con el índice PBR basal. Las variables desenlaces fueron el delta de cambio de la medición del PBR en los tres momentos posteriores de medición (T0= antes del bolo de cristaloides, T1=a las 2 horas, T2 a las 6h, T3 a las 24h del T0) tanto para el grupo de pacientes que recibieron soluciones balanceadas como para el que recibió soluciones no balanceadas. En este sentido para determinar la diferencia de proporciones en los diferentes momentos, de los dos grupos (muestras independientes) se realizó una prueba de Chi² o test exacto de Fisher (para valores esperados menores a 5). Cuando existía tres o más datos se realizó un análisis ANOVA de una vía para variables de comportamiento normal y la prueba de Kruskal Wallis para variables con comportamiento no normal. Se hizo análisis post-hoc con prueba de Bonferonni para determinar cual variable era diferente.

Para cumplir con el tercer objetivo, se consideró variable exposición el nivel basal de biomarcador de daño endotelial (angiopoyetina-2) y de apoptosis. La variable desenlace fue el cambio luego de recibir bolos de cristaloides en el T2. De acuerdo al comportamiento de la variable se realizó en muestras independientes una t-student o U de MannWhitney según el comportamiento normal o no normal de la variable respectivamente. Para las variables numéricas se realizó correlación de Pearson para las de distribución normal y correlación de Spearman para las variables con distribución no normal.

Para el cuarto objetivo se buscó establecer la relación entre el daño del glicocálix con desenlaces clínicos de interés (acidosis metabólica y lesión renal aguda). Se realizó una t-

student de grupos dependientes entre variable exposición (PBR mayor o menor a 2.0 mcg/lit) con nivel de creatinina entre cada grupo balanceado y no balanceado cuando existe distribución normal. Para distribución no normal se realizó una prueba de Wilcoxon. Luego, una comparación del daño del PBR entre un grupo balanceado y otro no balanceado, es decir grupos independientes, usando la t-student si tienen distribución normal o U. De Mann Whitney para distribución no normal.

Para todas las pruebas estadísticas se tomó un nivel de confianza del 95% y se consideró una p significativa < 0.05. Se utilizó el software de SPSS en su versión 24.0 para la realización de los análisis estadísticos y Epidat versión 1.4 para el cálculo del tamaño de la muestra.

5.11 Consideraciones éticas

El presente proyecto se presentó al comité de ética de la institución donde se realizó el estudio, y fue aceptado para poder ser llevado a cabo.

Para llevar a cabo el proyecto se puso en práctica los principios establecidos en Normas Internacionales, tales como: La Declaración de Helsinki la cual cita la importancia del respeto a los derechos del sujeto de estudio, prevaleciendo su interés sobre la ciencia y la sociedad, el consentimiento informado y el respeto por la libertad del individuo.

Las pautas CIOMS que hablan de los principios éticos que deben regir la ejecución de la investigación en seres humanos, especialmente en países en desarrollo, dadas las circunstancias socioeconómicas, leyes, reglamentos y disposiciones ejecutivas y administrativas. Asimismo, se tuvo en cuenta las Guías de la Buena Práctica Clínica de la Conferencia Internacional de Armonización (GPC/ICH).

A nivel nacional se tuvo en cuenta la Resolución 008430 de octubre 4 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Se enfatiza en el respeto a la dignidad y la protección de los derechos y el bienestar de los pacientes que hagan parte de la base de datos de la investigación (Artículo 5).

La investigación se realizó por residentes de cuidado intensivo pediátrico y su docente intensivista pediatra, personas idóneas, con conocimientos y experiencia (Art 6° Res 8430/2003), quienes negaron tener conflictos de intereses. A su vez se tuvo en cuenta la importancia de proteger la privacidad del individuo, sujeto de investigación, identificándolo, sólo cuando los resultados lo requieran y se autorice (Art 8° Res 8430/2003).

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 a su artículo 11, esta se clasifica como una investigación con **riesgo mínimo** en vista de que la realización del estudio implicó solo registrar datos de la historia clínica del paciente, especialmente en relación a aquellos procedimientos realizados comúnmente en la unidad de cuidados intensivos pediátricos. Adicionalmente, se realizó una evaluación del estado de la microvasculatura del paciente, a través de una técnica no invasiva que emplea un vídeomicroscopio portátil de colocación sublingual.

Por otro lado, se tomó paraclínicos rutinarios en niños críticos. Para ello, se tomó muestras de sangre adicionales, a partir del catéter venoso central (o línea arterial) que fue insertado en el paciente como parte del protocolo empleado en la unidad de cuidado intensivo pediátrico (UCIP) de la Cardio 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 superará el 0.5% de la volemia. No presentaron ningún tipo de dolor o molestia adicional por la realización del estudio pues durante todo este protocolo estuvieron bajo efectos de sedación y/o relajación e intubados, y las muestras fueron tomadas de las líneas vasculares previamente descritas.

Aunque el objetivo principal del estudio consistió 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. 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 a 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, se hizo énfasis en que la reanimación hídrica con cristaloides constituye una práctica de rutina en pacientes con sepsis severa o choque séptico, la cual se hace de manera no diferenciada (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.

En lo referente al cumplimiento de los artículos 6, 25 y 26 de la resolución antes mencionada, este estudio contempló la obtención del **consentimiento informado** 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 (anexo 4). Al ser niños que se encontraban intubados (criterio de inclusión), bajo efectos de sedación, analgesia y/o bloqueo neuromuscular continuo por la enfermedad de base, para facilitar la medición del grosor del glicocálix sublingual con el videomicroscopio se consideró de acuerdo al artículo 26 de la misma resolución, que el paciente **no tiene un nivel de consciencia suficiente que le permita firmar un asentimiento informado**.

Además, los representantes legales del menor pudieron manifestar su deseo de no autorizar la participación del menor en la investigación, sin que dicha decisión tenga 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.

5.12 Administración del proyecto

5.12.1 Cronograma.

Mes	Revisión Bibliográfica	Prueba piloto	Recolección de la muestra	Medición de variables clínicas y paraclínicas	Informe	Depuración datos	Análisis estadístico	Elaboración productos divulgación	Divulgación resultados	Informe final
1	■							■		
2	■							■		
3	■							■		
4	■	■	■	■				■		
5	■	■	■	■				■		
6	■	■	■	■				■		
7	■		■	■				■		
8	■		■	■						
9	■		■	■						
10	■		■	■						
11	■		■	■						
12	■		■	■						
13	■		■	■						
14	■		■	■		■				
15	■		■	■		■				
16	■		■	■	■	■				
17	■				■	■				
18	■				■	■	■			
19	■				■	■	■			

20									
21									
22									
23									
24									

5.12.2 Presupuesto general

RUBROS	FONDO INVESTIGACIÓN	MEDICINA (CHIA)	FUNDACIÓN CARDIO-INFANTIL INSTITUTO DE CARDIOLOGÍA	UNIVERSIDAD CES	TOTAL
ARRENDAMIENTOS	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
BIBLIOGRAFIA	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
CONSTRUCCIONES	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
EQUIPOS	\$105.000.000	\$0	\$0	\$0	\$105.000.000
EVENTO ACADÉMICO	\$3.933.000	\$0	\$0	\$0	\$3.933.000
GASTOS DE TRANSPORTE INTERNACIONAL	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
GASTOS LEGALES	\$5.000.000	\$0	\$0	\$0	\$5.000.000
HONORARIOS	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
IMPUESTOS	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
MANTENIMIENTO Y REPARACIONES	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
MATERIALES	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
PERSONAL	\$0	\$96.637.282	\$9.035.000	\$0	\$105.672.282
PUBLICACIONES	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
SALIDAS DE CAMPO	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
SEGUROS	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
SERVICIOS TECNICOS	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
SOFTWARE	\$0	\$0	\$0	\$0	\$0
VIAJES	\$5.796.000	\$0	\$0	\$0	\$5.796.000
TOTAL	\$119.729.000	\$96.637.282	\$9.035.000	\$0	\$225.401.282

6. Resultados

Durante el periodo del estudio se incluyó 106 pacientes con sepsis o choque séptico (Tabla 4). La mediana de edad fue 3.9 años (0.60-13.10). De estos, 48 niños (45.2%) recibieron soluciones balanceadas y 58 (54.7%) soluciones no balanceadas. La principal causa de ingreso a la unidad de cuidado intensivo fueron los problemas respiratorios y gastrointestinales. El 57.5% de los pacientes tenía choque séptico. 14 (13.2%) pacientes tenían asociada la infección por SARS-CoV-2 incluyendo síndrome inflamatorio multisistémico asociado a covid-19 (MIS-C).

Tabla 4. Características basales de la población estudiada.

Característica	Total N=106	Balanceadas n=48	No balanceadas n=58	Valor de p*
Edad años (RIQ)	3.9 (0.60-13.10)	4.1 (0.71 - 13.51)	2.5 (0.58-11)	0.56*
Peso en Kg (RIQ)	14.5 (6.8-34.5)	15.3 (7.4 – 38.8)	12.9 (6.8 – 30.1)	0.83*
Sexo Femenino (%)	53 (50)	23 (48)	30 (52)	0.70**
Días estancia UCIP (RIQ)	10 (6-17)	14 (6 - 16)	10 (6 - 19)	0.76*
Foco Infeccioso (%)				0.38**
Respiratorio	40 (38.1)	22 (46.8)	18 (31)	
Gastrointestinal	40 (38.1)	14 (29.8)	26 (44.8)	
Genitourinario	1 (1)	0	1 (1.7)	
SNC	7 (6.7)	2 (4.3)	5 (8.6)	
Otros	17 /16.2)	9 (19)	8 (13.8)	
Origen admisión (%)				0.66**
Urgencias	24 (22.6)	10 (20.8)	14 (24.1)	
Hospitalización general	12 (11.3)	4(8.3)	8 (13.8)	
Remitidos otro hospital	28 (26.4)	15 (31.3)	13 (22.4)	
Cirugía	42 (39.6)	19 (39.6)	23 (39.7)	
Clasificación (%)				0.03**
Sepsis	45 (42.5)	15 (31.3)	30 (51.7)	
Choque séptico	61 (57.5)	33 (68.8)	28 (48.3)	
Comorbilidades (%)	77 (72.6)	32 (66.7)	45 (77.6)	0.21**

PIM-2 (RIQ)	17.9 (8.7-31.5)	22.3 (10.5 – 34.1)	15.4 (6.2 – 29.2)	0.07*
Score PELOD-2 (RIQ)	9 (4-10)	8 (4 - 9)	9 (4 - 11)	0.03*
Ventilación Mecánica (%)	51 (48.1)	28 (58.3)	23 (39.7)	0.01**
Score Vasoactivo (RIQ)	11.5 (4-24)	14.4 (6 - 28)	6 (4 - 22)	0.11*
Datos de laboratorio (RIQ)				
PCR mg/dL	5.1 (1.7-11.4)	5.5 (2.0-12.3)	4.9 (1.3-9.8)	0.67*
PCT ng/mL	1.2 (0.4-5.3)	1.2 (0.4-6.5)	1.3 (0.5-4.4)	0.71*
Lactato mmol/Lit	1.26 (0.89-1.83)	1.49 (0.95 – 1.98)	1.18 (0.82 - 1.73)	0.04*
pH	7.39 (7.34-7.44)	7.39 (7.32-7.44)	7.40 (7.36-7.44)	0.39*
Bicarbonato mq/Lit	22.4 (19.7-25.3)	22.1 (19.8-25.1)	22.6 (20.1-25.4)	0.89*
Ferritina mg/dL	353 (177-1262)	350 (183-1394)	384 (177 - 1261)	0.96*
Albúmina g/dL	3.1 (2.7-3.5)	3.1 (2.6-3.5)	3.3 (2.8-3.6)	0.12*
Creatinina mg/dL	0.41 (0.41-0.61)	0.45 (0.38-0.61)	0.43 (0.38-0.61)	0.85*
Glucemia mg/dL	114 (99.8-137.5)	105 (91-143)	120 (94-135)	0.36*
Dímero D	3.2 (1.8-6.5)	2.6 (1.2-6.3)	3.2 (2.0-6.9)	0.62*
Sodio mmol/Lit	141 (138-144)	140 (137-144)	142 (138-146)	0.30*
Cloro mmol/Lit (±DS)	105 (101-108)	105 (102-108)	105 (100-108)	0.66 [†]
Datos Microcirculación				
PBR (±DS)	2.17 (0.25)	2.18 (0.26)	2.16 (0.26)	0.72 [†]
PBR flow corrected (±DS)	2.10 (0.52)	2.10 (0.55)	2.11 (0.49)	0.88 [†]
Capillar density D4-6 (RIQ)	29.1 (18.3-48.6)	29.3 (20.4-57.4)	28.9(15.5 – 44.2)	0.47*
Syndecan-1 ng/mL (RIQ)	116.8(81.2-189)	110 (90.1–131.2)	123.1(59.4-225.8)	0.55*
Angiopietina 2 ng/mL (RIQ)	11.1 (7.4-24.5)	11.6 (7.0-24.8)	11.1 (7.4-23.6)	0.96*
Mortalidad (%)	8 (7.5)	5 (10.4)	3 (5.2)	0.24***

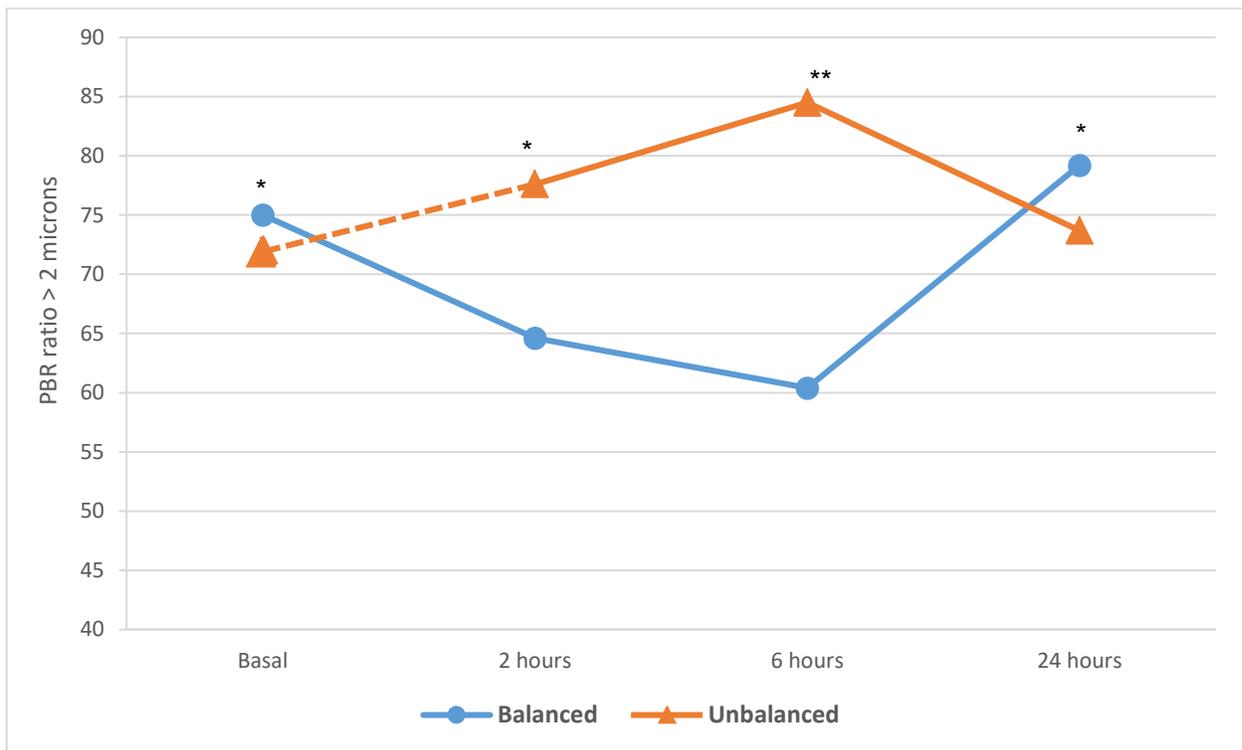
PIM-2: Pediatric index Mortality-2, PELOD-2: Pediatric Logistic Organ Dysfunction, PCR: proteína C reactiva, PCT: procalcitonina. *Prueba de T-Student – *U Mann Whitney según distribución variable. **Chi² de Pearson. *** Prueba Fisher Score † T-student grupos independientes con varianzas iguales. Vasoactivo (como se calculo).

6.1 Alteraciones del Glicocáliz endotelial según el tipo de cristaloides

En la medición basal (tiempo 0) realizada con el videomicroscopio, se observó alteración del glicocáliz endotelial, tanto en el grupo que recibió soluciones balanceadas como en el

que recibió soluciones no balanceadas (Figura 2). Del total de la población estudiada, el 73.3% (77/106) tenían un PBR mayor a 2.0 μm , antes de recibir bolos de cristaloides. Esta alteración del glicocálix endotelial se asoció con la severidad, siendo más frecuente en los pacientes con choque séptico que en los niños con sepsis (80% vs 65%; OR 2.2 IC95% 0.92-5.3;p=0.07) sin diferencias en el PPV (p=0.57) ni en la DC (p=0.45).

Figura 2. Comportamiento del PBR según el tipo de solución utilizada en los diferentes tiempos de medición.



PBR (perfused boundary region). *p>0.1 **p<0.01

Se observó a las dos horas de administrados los bolos de cristaloides poca variabilidad del PBR con respecto al valor basal (Tabla 5). No obstante, al realizar la medición a las 6 horas, luego de la administración, se observó una reducción del PBR en el grupo que recibió soluciones balanceadas respecto al grupo que recibió reanimación hídrica con soluciones no balanceadas (2.08 μm vs 2.24 μm ; Dif medias (-) 160; 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. (Tabla 5 - Figura 2). En otras palabras, el mayor riesgo de lesión del glicocálix endotelial alcanzó su pico máximo a las 6 horas posteriores a la administración de los cristaloides no balanceados comparados con los balanceados (84.5% vs 60.4%; OR 3.57: IC95% 1.43 – 8.92; $p < 0.01$) regresando a valores similares al basal luego de 24h de ser administrados (73.7.2% vs 79.2%; $p=0.51$). No encontramos asociación entre un PBR aumentado y la escala de mortalidad de PELOD-2 ($p = 0.70$), PIM-2 ($p = 0.22$) en la línea basal de los pacientes.

Tabla 5. 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
PBR (\pmDS)	Basal	2.18 (0.26)	2.16 (0.26)	(-) 0.03	0.72
PBR (\pmDS)	2 horas	2.15 (0.28)	2.19 (0.26)	(-) 0.04	0.54
PBR (\pmDS)	6 horas	2.08 (0.25)	2.24 (0.25)	(-) 0.15	<0.01
PBR (\pmDS)	24 horas	2.22 (0.34)	2.216 (0.31)	(-) 0.07	0.31

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

Con respecto al syndecan-1, al igual que lo encontrado en la medición basal de la videomicroscopía, estaba más alterado en los pacientes con choque séptico que en los niños con sepsis (129.68 ng/mL [RIQ 83.15-204.56] vs 101.66 ng/mL [68.51-187.13]; $p = 0.31$) sin diferencias en la línea de base entre las soluciones no balanceadas vs balanceadas (123 ng/mL [RIQ 58-229] vs 116 ng/mL [RIQ 90-134]; $p=0.62$). Sin embargo, se observó una tendencia al descenso en el valor plasmático de syndecan-1 en el grupo de cristaloides balanceadas que alcanzó su valor más bajo también (al igual que la videomicroscopía) a las 6 horas de ser administradas cuando se comparó con las soluciones no balanceadas (104 ng/mL [RIQ 58-152] vs 125 ng/mL [RIQ 83-221]; $p=0.05$) (Figura 3A). Particularmente estaba más alterado en pacientes mayores de dos años ($p=0.05$) independientemente del foco infeccioso y comorbilidades.

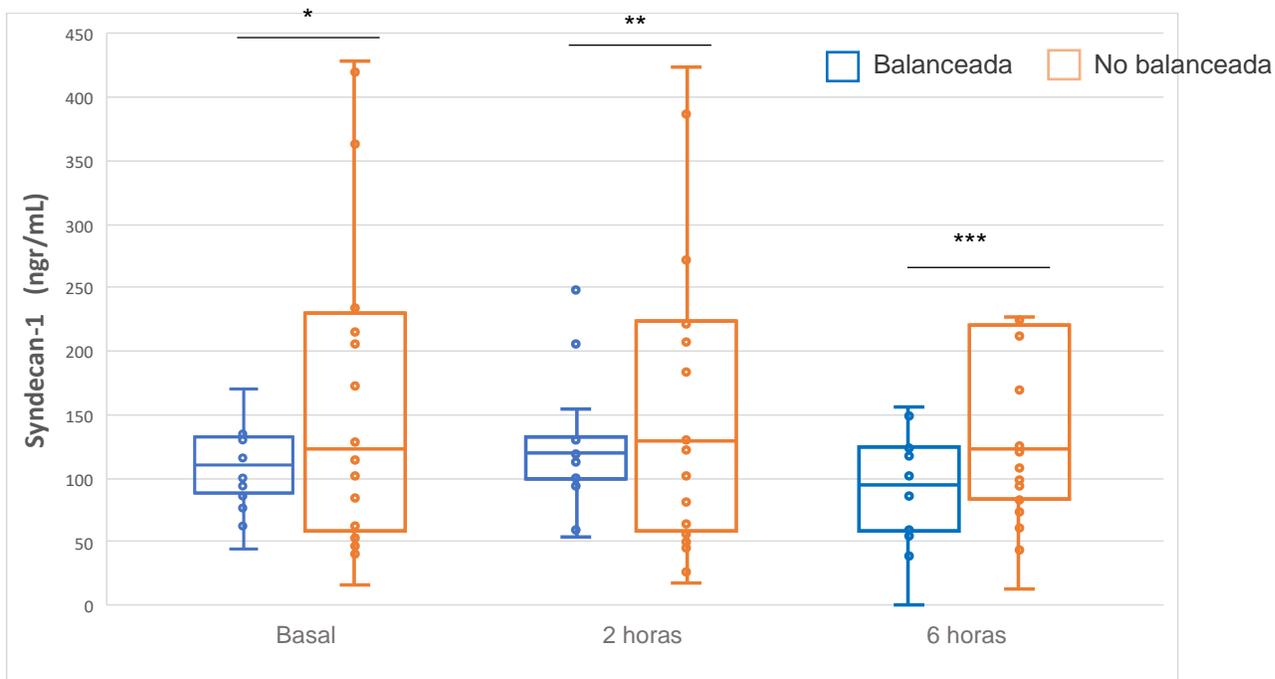
6.2 Alteraciones de otros biomarcadores según tipo de cristaloides

Se evaluó antes y a las 6 horas de administrar el bolo de cristaloides, el biomarcador plasmático de activación endotelial (Ang-2). En los dos grupos se observó un valor más de 7 veces alterado (figura 3B) frente al valor de referencia (<1.6 ng/mL). No se observó diferencias en el nivel basal de Ang-2 entre las soluciones no balanceadas (11.15 ng/mL [7.3-23.5]) frente a las balanceadas (11.6 ng/mL [7.1-27.7]) $p=0.96$. A las 6 horas de la administración de los cristaloides, se mantuvo el nivel en el grupo de soluciones balanceadas pero se observó tendencia al ascenso en el grupo de no balanceadas (10.1 [6.2-22.4] vs 14.95 [9.1-24.7]; $p=0.07$). Sin embargo, se observó una correlación leve entre los niveles de Ang-2 a las 6 horas y el nivel de PBR en los dos grupos (ρ 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 Ang-2 se correlacionó moderadamente con el daño del glicocálix endotelial (ρ 0.4; $p < 0.05$). De la misma manera, se observó que la Ang-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 ($\rho= (-) 0.34$; $p = 0.05$). No se encontró que los niveles de la Ang-2 estuvieran asociados con el nivel de PCR ($p = 0.81$), PCT ($p = 0.78$), PELOD ($p = 0.5$), lactato ($p = 0.6$), glucemia ($p = 0.5$) ni mortalidad ($p = 0.83$).

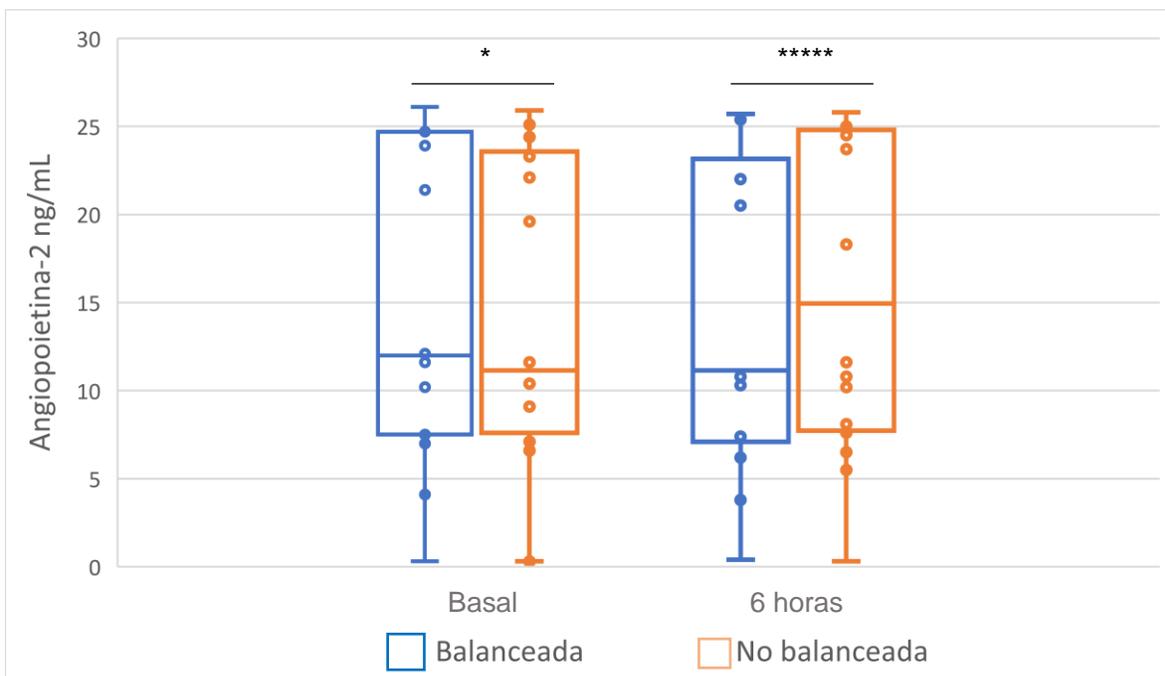
La anexina A5 (figura 3C) en el grupo que recibió solución balanceada estaba mucho más baja comparada con el grupo de soluciones no balanceadas (0.10 ng/ml [RIQ 0.0 - 6.4] vs 6.5 ng/mL [RIQ 0.7 – 10.6] ; $p = 0.04$). De igual manera, los pacientes que recibieron SSN tenían mucho más riesgo de encontrar alterada la anexina A5 a las 6 horas de ser administrada esta solución (OR 7.61 IC 95% 1.59 – 36.48; $p<0.01$).

Figura 3. Niveles de Biomarcadores plasmáticos según el tipo de solución en los diferentes tiempos de medición. A. Syndecan-1. B. Angiotensina-2. C. Annexina A-5.

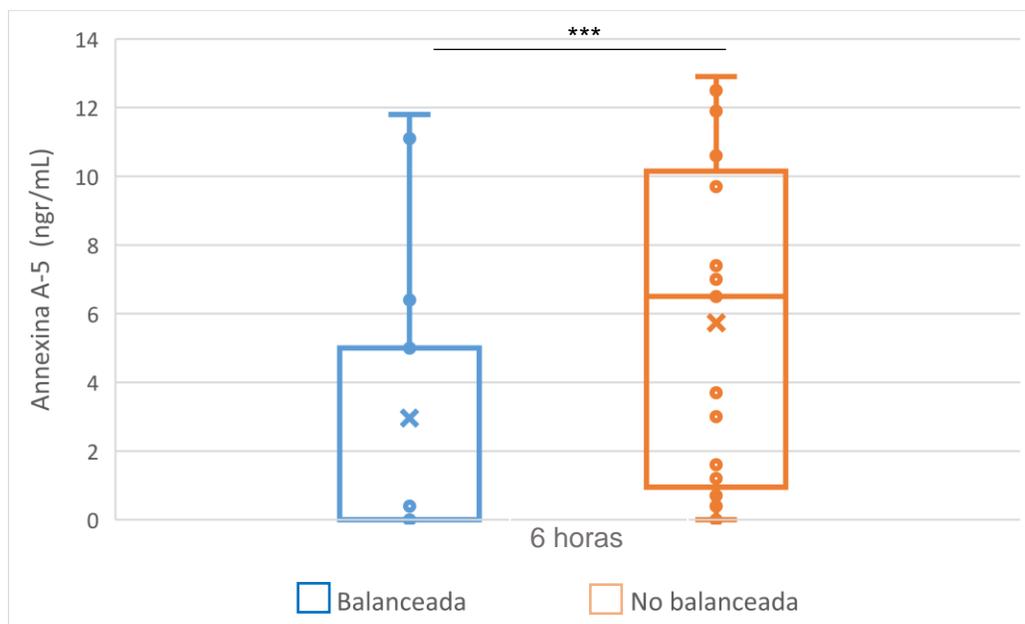
A.



B.



C.



*p=0.1 **p>0.2 ***p=0.05

6.3 Alteraciones clínicas de interés según el tipo de cristaloides y daño del glicocálix endotelial

A las 2 horas de administrados los bolos se observó mayor frecuencia de acidosis metabólica en el grupo que recibió soluciones no balanceadas frente al de soluciones balanceadas (47% vs 22%; OR 1.47 IC95% 1.03-2.13; p = 0.03). Esta mayor frecuencia se mantuvo a las 6 horas (41% vs 18%; OR 1.38 IC 95% 1.01 – 1.92; p = 0.05) y a las 24 horas (29% vs 9%; OR 1.29 IC95% 1.01 – 1.64; p = 0.04). 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 elevado de syndecan-1 (OR 4.88: IC95% 1.23 – 28.08; p = 0.05). (Figura 4A,4B)

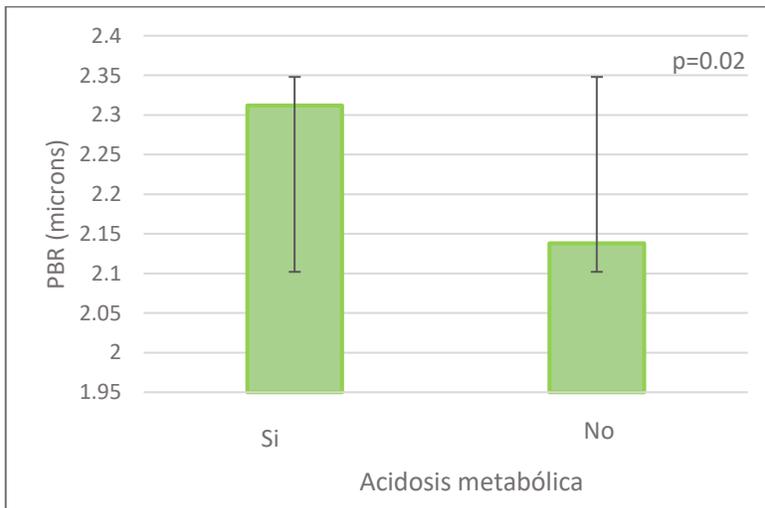
Se encontró más hipercloremia en el grupo que recibió soluciones no balanceadas a las 6 horas de ser administradas (25% vs 6%; p=0.04) con respecto a las balanceadas. Estos pacientes con hipercloremia tenían un PBR más alto (2.312 vs 2.138; Dif medias 0.173; p = 0.04), y mayores niveles de syndecan-1 (123.35 [RIQ 61.16-165-24] vs 105.92 [74.42 – 640.81]; p = 0.05) (Figura 4C). Se encontró 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.

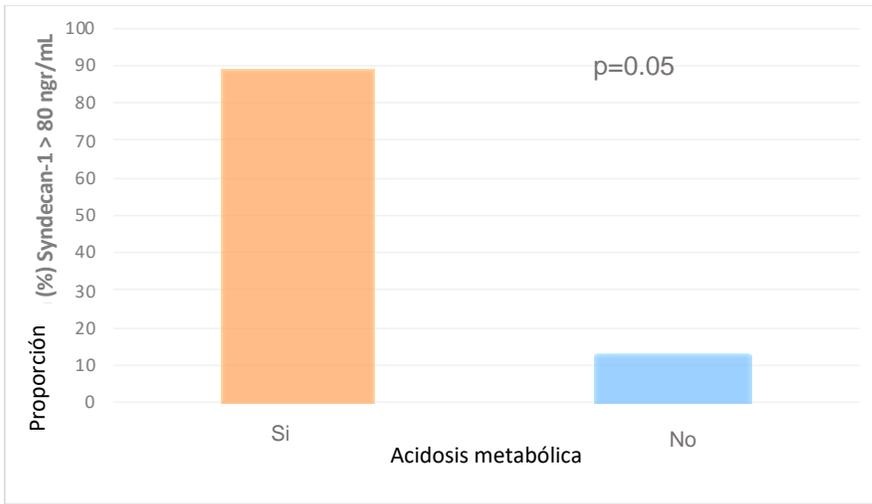
Se observó una correlación negativa débil entre el nivel de albúmina sérica y el PBR en la línea basal ($r = (-) 0.23$; $p = 0.08$), negativa moderada a las 2 horas ($r = (-) 0.35$; $p = 0.01$), negativo débil a las 6 horas ($r = (-) 0.23$; $p = 0.05$), y negativo débil las 24 horas ($r = (-) 0.25$; $p = 0.05$) luego de administrados los cristaloides. (Figura 4D). También, 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; $p=0.05$).

Figura 4. Alteraciones del glicocálix endotelial a las 6 horas de recibir bolo de cristaloides. A. Nivel de PBR en pacientes con acidosis metabólica. B. Proporción de alteración del syndecan-1 en niños con acidosis metabólica. C. Nivel de PBR en según nivel de cloro. D. Correlación entre niveles de PBR y albúmina.

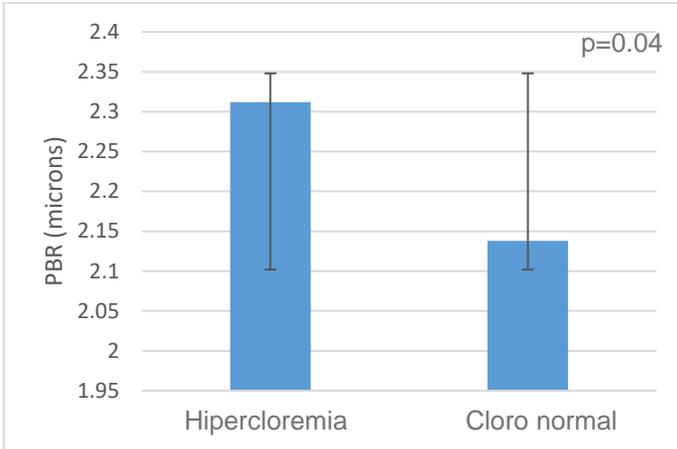
A.



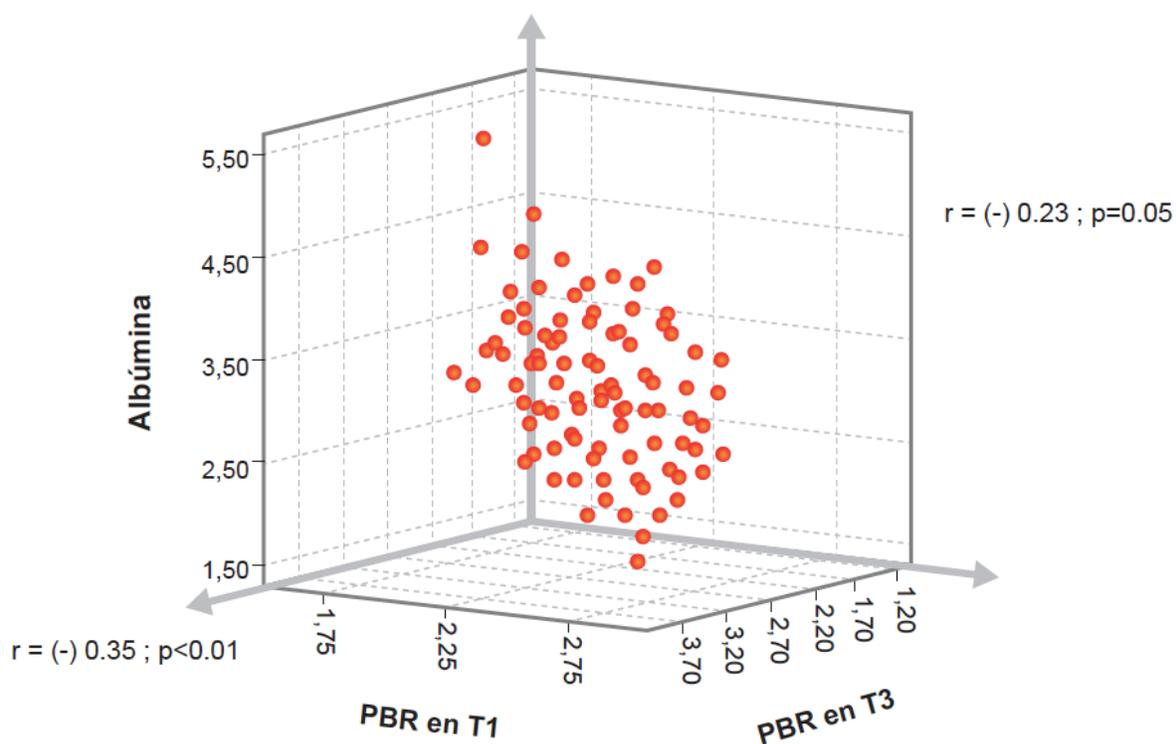
B.



C.



D.



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 (OR 2.5 IC95% 1.20-7.31; $p=0.05$) al ser evaluados con videomicroscopía sublingual.

En el análisis multivariado controlando factores de confusión (score vasoactivo, PIM-2, edad) se encontró que el uso de soluciones no balanceadas presenta un mayor riesgo de daño del glicocálix endotelial (ORa 3.82: IC95% 1.51-9.67; $p < 0.01$), luego de 6 horas de ser administradas, con respecto a las soluciones balanceadas. Igualmente, en los pacientes que reciben bolos* de cristaloides y estaban recibiendo infusión de albúmina al 20%, se observó 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 estaba recibiendo infusiones de albúmina. Los pacientes menores de dos años con choque séptico que cursaron con PCR mayor a 4

mgr/dl y ferritina mayor a 500 mcgr/dL tenían mayor riesgo de daño del glicocálix endotelial (ORa 3.16;IC95% 1.11-9.15; p=0.03) (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis multivariado de los factores asociados con las alteraciones al glicocálix endotelial

	PBR microns* (±SD)	aOR	95% IC	P
Solución no balanceada	2.24 (0.25)	3.82	1.51-9.67	<0.01
Menores de 2 años	2.15 (0.29)	0.31	0.11-0.86	0.02
Ferritina > 500 mcg/dL	2.24 (0.28)	3.7	1.10-12.76	0.03
PCR > 4 mg/dl	2.24 (0.34)	3.1	1.11-9.15	0.03
Delta CO2**	2.14 (0.26)	0.89	0.80-0.99	0.03

*PBR: perfused boundary region medida 6h después de la administración del bolo. ** Diferencia de CO2 veno-arterial, Mayor a 6 considerada como anormal. Ajustado por PIM-2, edad y score vasoactivo.

7. Discusión

Este es el primer estudio que evaluó la relación entre las soluciones usadas para la reanimación hídrica y el daño al glicocálix endotelial en pediatría. Se encontró un mayor riesgo de daño del glicocálix endotelial cuando se administra reanimación hídrica con soluciones no balanceadas, alcanzando el nivel máximo de lesión a las 6 horas de ser administradas. Así mismo, los pacientes en quienes se documentó daño del glicocálix tenían mayor riesgo de acidosis metabólica, hipercloremia y lesión renal aguda.

Los pacientes con sepsis y choque séptico pueden presentar daño del GE como una de las principales implicaciones en el deterioro de la microcirculación. Siendo actualmente la evaluación de la integridad del GE considerada una herramienta prometedora para guiar el

tratamiento en sepsis y choque séptico, así como para determinar pronóstico o mayor riesgo de complicaciones.³²

Existen varias formas para objetivar la disfunción del GE, una de ellas incluye la medición de biomarcadores como syndecan y la otra forma incluye la medición del PBR mediante videomicroscopía sublingual. Ambas estrategias fueron aplicadas en nuestro estudio y discutiremos los resultados obtenidos en relación con el tipo de solución utilizada para la reanimación hídrica y otros hallazgos.

Bajo condiciones de sepsis y choque séptico, un GE disfuncional permite que los eritrocitos penetren más profundamente hacia el endotelio, lo que resulta en un aumento del PBR. Iba y cols observaron el GE a través del uso de videomicroscopía sublingual en un modelo de sepsis en ratas, encontrando que el PBR comenzó a aumentar 30 minutos después de la infusión de endotoxina y alcanzó 1,7 veces el valor inicial. Del total de la población incluida en nuestro estudio, el 73.3% (77/106) tenían un PBR mayor a 2.0 μm antes de recibir bolos de cristaloides. Esta alteración del GE se asoció con la severidad siendo más frecuente en los pacientes con choque séptico que en los niños con sepsis (80% vs 65%; OR 2.2 IC95% 0.92-5.3;p=0.07) sin diferencias en el PPV (p=0.57) ni en la DC (p=0.45).

Con respecto al syndecan-1, al igual que lo encontrado en la medición basal de la videomicroscopía, estaba más alterado en los pacientes con choque séptico que en los niños con sepsis sin diferencias en la línea de base entre las soluciones no balanceadas vs balanceadas. Sin embargo, se observó una tendencia al descenso en el valor plasmático de syndecan-1 en el grupo de cristaloides balanceados que alcanzó su valor más bajo también (al igual que la videomicroscopía) a las 6 horas de ser administradas cuando se comparó con las soluciones no balanceadas. Estos datos se correlacionan con hallazgos de otros estudios. Por ejemplo, Piotti y cols midieron las concentraciones de syndecan-1 a los días 1, 2 y 7 en 375 pacientes con choque séptico que sobrevivieron hasta 7 días después de la aleatorización encontrando que las concentraciones plasmáticas de syndecan-1 aumentaron significativamente durante 7 días, encontrándose más elevados en pacientes con falla orgánica múltiple y estableciéndose como factor de riesgo independiente para requerimiento de terapia de soporte renal durante la estancia en UCIP, así como para trastorno de la coagulación secundario y mortalidad a los 90 días.

Por otro lado, se realizó la evaluación del componente de daño endotelial midiendo la Ang-2 antes y después del uso de cristaloides. Se encontró una elevación significativa en los

niveles de angiopoyeina-2 luego de recibir bolos de cristaloides. Hallazgos similares encontró Ricciuto y cols, quienes adicionalmente encontraron que los mayores niveles de Ang-2 se relacionaban con mayor mortalidad al día 28 y disfunción orgánica múltiple.⁴⁸ Adicionalmente, encontramos en nuestro estudio que a las seis horas de ser administradas las SNB estaba muy elevada la anexina A5 que es un biomarcador de apoptosis. No conocemos estudios previos que hayan reportado una asociación entre el tipo de cristaloides y el inicio de este tipo de muerte celular programada.

La reanimación hídrica a pesar de ser considerada una estrategia terapéutica no está exenta de causar efectos secundarios como la activación de citoquinas, el desprendimiento del GE y la disfunción renal. Algunos estudios han demostrado que la reanimación con una gran cantidad de SSN 0.9% conduce a hipernatremia, acidosis metabólica hiperclorémica y otras complicaciones como lesión renal aguda. Semler y cols mostraron que la SSN 0.9% se asoció con un aumento de la disfunción renal y peores resultados que los cristaloides balanceados en adultos críticamente enfermos. Self y cols encontraron que la SSN 0.9% se relacionó con eventos renales adversos mayores dentro de los 30 días en comparación con cristaloides balanceados. Además, un ensayo realizado por Cheung-Flynn mostró que la SSN 0.9% contribuyó a la degradación del GE en un modelo de cerdo en comparación con el uso de Plasma-Lyte. Otro estudio preclínico realizado por Byrne y cols sugirió que la SSN 0.9% dio lugar a la degradación del GE en un modelo ovino de endotoxemia. Mientras que Torres y Flynn encontraron que la SSN 0.9% estaba más estrechamente asociada con la degradación del GE que otras soluciones como lactato de ringer, posiblemente por la pérdida de proteínas y PG adsorbidas por el GE. De igual manera, Martin y cols sugirieron que la degradación del GE causada por la SSN 0.9% podría deberse a la hipernatremia. En contraste, Zampieri y cols no encontraron diferencias significativas entre los cristaloides balanceados y la SSN 0.9% en pacientes críticamente enfermos. Los resultados de nuestro estudio son similares a lo generalmente descrito en la literatura, pues encontramos cómo los pacientes que recibieron reanimación hídrica con soluciones no balanceadas tuvieron mayor nivel de PBR, syndecan, angiopoyetina-2 y anexina A5 y esto relacionado también con mayor incidencia de acidosis metabólica hiperclorémica y lesión renal aguda, con un pico máximo de presentación a las 6 horas postadministración del bolo.

En general, todavía hay mucho por estudiar y describir en relación con el efecto de los cristaloides balanceados sobre el GE, pero cada vez más la balanza tiende a estar a favor del uso de cristaloides balanceados. Es importante aclarar que aunque varios estudios han

sugerido que los cristaloides balanceados podrían aminorar la degradación del GE, la mayoría de los estudios no corrigieron los efectos de la velocidad de infusión o el volumen de infusión, por lo que se necesitan más estudios clínicos de alta calidad a este respecto.

Importante destacar el hallazgo de la hipoalbuminemia y el riesgo de presentar daño del GE medido con videomicroscopía sublingual, el cual tiene una evidencia biológica plausible en donde se le han conferido a la albúmina propiedades antiinflamatorias y antioxidantes que posiblemente funcionen como protectoras del GE, esto también comentado recientemente en el estudio de Piotti y cols.³³

Imposible en época de pandemia no comentar el comportamiento del GE encontrado en pacientes con COVID-19, siendo esta enfermedad actualmente considerada la mayor expresión de endotelopatía y por ende de disfunción del GE. Realizamos por primera vez la evaluación del GE mediante videomicroscopía sublingual en niños con COVID-19 y encontramos cómo los niños con MIS-C tuvieron mayor riesgo de degradación del glicocálix, con respecto a los niños con neumonía por SARS-CoV-2 (OR 2.5 IC95% 1.20-7.31; p=0.05).

Esta investigación tiene varias limitantes. Fue realizado en un solo centro que es referencia de pacientes muy críticos y complejos. Esto puede sesgar los datos y limitar su validez externa. No obstante, se encontró que el glicocálix estaba más alterado en los pacientes más graves (choque vs no choque) que tiene plausibilidad biológica con descripciones previas en adultos. Otra limitante es que por razones presupuestales no se incluyó la medición de citoquinas. Dado las limitantes de un valor aislado de una citoquina, no se tuvo en cuenta para hacer mediciones seriadas. Sería interesante a futuro, entender la respuesta inflamatoria determinada por citoquinemia y su interacción con el glicocálix endotelial. lo cual podría condicionar un sesgo por tratarse de niños críticamente más enfermos.

8. Conclusiones

La sepsis y el choque séptico contribuyen al daño al glicocalix endotelial, el cual puede contribuir a un mal pronóstico en pacientes críticamente enfermos. La reanimación con líquidos es una estrategia terapéutica clínica esencial para mejorar la perfusión microcirculatoria y el tipo de solución utilizada puede tener efectos beneficiosos o perjudiciales sobre el GE, lo que deriva en el papel tan importante que tiene este en la

actualidad como un nuevo índice de evaluación y diana terapéutico. Los resultados de nuestra investigación encontraron que el daño al glicocáliz es mayor en los pacientes que reciben reanimación hídrica con soluciones no balanceadas, siendo este daño, mayor a las 6 horas posterior a su administración. También encontramos que existe una relación entre el daño del GE y mayor frecuencia de acidosis metabólica, hipercloremia y lesión renal aguda.

9. Bibliografía

1. Fernández-Sarmiento J, De Souza DC, Martinez A, Nieto V, López-Herce J, Soares Lanzotti V, et al. 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. *J Intensive Care Med.* 2022 Jun;37(6):753-763.
2. Weiss SL, Peters MJ, Alhazzani W, Agus MSD, Flori HR, et al. Surviving sepsis campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children. *Intensive Care Med.* 2020 Feb;46(Suppl 1):10-67.
3. Tan B, Wong JJ, Sultana R, Koh JCJW, Jit M, et al. Global Case-Fatality Rates in Pediatric Severe Sepsis and Septic Shock: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2019 Apr 1;173(4):352-362.
4. Menon K, Schlapbach LJ, Akech S, Argent A, Biban P, et al. Pediatric Sepsis Definition Taskforce of the Society of Critical Care Medicine. Criteria for Pediatric Sepsis-A Systematic Review and Meta-Analysis by the Pediatric Sepsis Definition Taskforce. *Crit Care Med.* 2022 Jan 1;50(1):21-36.
5. Candel FJ, Borges Sá M, Belda S, Bou G, Del Pozo JL, et al. Current aspects in sepsis approach. Turning things around. *Rev Esp Quimioter.* 2018 Aug;31(4):298-315.
6. Jaramillo-Bustamante JC, Marín-Agudelo A, Fernández-Laverde M, Bareño-Silva J. Epidemiology of sepsis in pediatric intensive care units: first Colombian multicenter study. *Pediatr Crit Care Med.* 2012 Sep;13(5):501-8.
7. Lelubre C, Vincent JL. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. *Nat Rev Nephrol.* 2018 Jul;14(7):417-427.
8. Poston JT, Koyner JL. Sepsis associated acute kidney injury. *BMJ.* 2019 Jan 9;364:k4891.
9. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2013 Jan;13(1):34-45.
10. Iba T, Levi M, Levy JH. Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Semin Thromb Hemost.* 2020 Feb;46(1):89-95.
11. Saito S, Uchino S, Hayakawa M, Yamakawa K, Kudo D, et al. Japan Septic Disseminated Intravascular Coagulation (JSEPTIC DIC) study group. Epidemiology of disseminated

- intravascular coagulation in sepsis and validation of scoring systems. *J Crit Care*. 2019 Apr;50:23-30.
12. Woźnica EA, Inglot M, Woźnica RK, Łysenko L. Liver dysfunction in sepsis. *Adv Clin Exp Med*. 2018 Apr;27(4):547-551.
 13. Gofton TE, Young GB. Sepsis-associated encephalopathy. *Nat Rev Neurol*. 2012 Oct;8(10):557-66.
 14. Fernández-Sarmiento J, Alcalá-Lozano C, Barrera PA, Erazo Vargas SC, Gómez Cortes LB, et al. Association Between Unbalanced Solutions and Acute Kidney Injury During Fluid Resuscitation in Children With Sepsis. *J Intensive Care Med*. 2022 May;37(5):625-632.
 15. Jedlicka J, Becker BF, Chappell D. Endothelial Glycocalyx. *Crit Care Clin*. 2020 Apr;36(2):217-232. doi: 10.1016/j.ccc.2019.12.007.
 16. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, Gomez H, Kellum JA, Ospina-Tascón GA, Hernandez G, Murray P, De Backer D; ADQI XIV Workgroup. THE ENDOTHELIUM IN SEPSIS. *Shock*. 2016 Mar;45(3):259-70.
 17. 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.
 18. Tarbell JM, Cancel LM. The glycocalyx and its significance in human medicine. *J Intern Med*. 2016 Jul;280(1):97-113.
 19. Aldecoa C, Llau JV, Nuvials X, Artigas A. Role of albumin in the preservation of endothelial glycocalyx integrity and the microcirculation: a review. *Ann Intensive Care*. 2020 Jun 22;10(1):85.
 20. Cosgun ZC, Fels B, Kusche-Vihrog K. Nanomechanics of the Endothelial Glycocalyx: From Structure to Function. *Am J Pathol*. 2020 Apr;190(4):732-741.
 21. Schött U, Solomon C, Fries D, Bentzer P. The endothelial glycocalyx and its disruption, protection and regeneration: a narrative review. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2016 Apr 12;24:48.
 22. Liu HQ, Li J, Xuan CL, Ma HC. A review on the physiological and pathophysiological role of endothelial glycocalyx. *J Biochem Mol Toxicol*. 2020 Nov;34(11):e22571.
 23. Dragovich MA, Chester D, Fu BM, Wu C, Xu Y, Goligorsky MS, Zhang XF. Mechanotransduction of the endothelial glycocalyx mediates nitric oxide production

- through activation of TRP channels. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2016 Dec 1;311(6):C846-C853.
24. Zhang X, Sun D, Song JW, Zullo J, Lipphardt M, Coneh-Gould L, Goligorsky MS. Endothelial cell dysfunction and glycocalyx - A vicious circle. *Matrix Biol*. 2018 Oct;71-72:421-431.
 25. Joffre J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial Responses in Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020 Aug 1;202(3):361-370.
 26. Pillinger NL, Kam P. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anaesth Intensive Care*. 2017 May;45(3):295-307.
 27. Butler MJ, Down CJ, Foster RR, Satchell SC. The Pathological Relevance of Increased Endothelial Glycocalyx Permeability. *Am J Pathol*. 2020 Apr;190(4):742-751.
 28. Martin L, Koczera P, Zechendorf E, Schuerholz T. The Endothelial Glycocalyx: New Diagnostic and Therapeutic Approaches in Sepsis. *Biomed Res Int*. 2016;2016:3758278.
 29. Juffermans NP, van den Brom CE, Kleinveld DJB. Targeting Endothelial Dysfunction in Acute Critical Illness to Reduce Organ Failure. *Anesth Analg*. 2020 Dec;131(6):1708-1720.
 30. Ince C, Boerma EC, Cecconi M, De Backer D, Shapiro NI, Duranteau J, et al. Cardiovascular Dynamics Section of the ESICM. Second consensus on the assessment of sublingual microcirculation in critically ill patients: results from a task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 2018 Mar;44(3):281-299
 31. Russell MJ, Kanthimathinathan HK. Is There an Optimum Duration of Fluid Bolus in Pediatric Septic Shock? A Critical Appraisal of "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" by Sankar et al (*Pediatr Crit Care Med* 2017; 18:e435-e445). *Pediatr Crit Care Med*. 2018 Apr;19(4):369-371.
 32. Ford N, Hargreaves S, Shanks L. Mortality after fluid bolus in children with shock due to sepsis or severe infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(8):e43953.
 33. Piotti A, Novelli D, Meessen JMTA, Ferlicca D, Coppolecchia S, Marino A, Salati G, Savioli M, Grasselli G, Bellani G, Pesenti A, Masson S, Caironi P, Gattinoni L, Gobbi M, Fracasso C, Latini R; ALBIOS Investigators. Endothelial damage in septic shock patients

as evidenced by circulating syndecan-1, sphingosine-1-phosphate and soluble VE-cadherin: a substudy of ALBIOS. Crit Care. 2021 Mar 19;25(1):113.

5. Anexos

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

Nombre del estudio	Daño del glicocálix endotelial en niños con sepsis que reciben bolos de cristaloides no balanceados
Investigadores	Steffanie Flórez Mercado MD Residente de Cuidado Intensivo Pediátrico Universidad de La Sabana Pediatra Universidad Libre. Laura Carolina Alarcón Forero, MD Residente de Cuidado Intensivo Pediátrico Universidad de La Sabana Pediatra Universidad del Rosario Dr. Jaime Fernández-Sarmiento, PhD Jefe postgrado Cuidado Intensivo Pediátrico Universidad de la Sabana Director Unidad de Cuidado Intensivo Pediátrico
Instituciones participantes	Universidad de la Sabana - Universidad CES – Fundación Cardioinfantil-IC

Respetado padre de familia:

Lo invitamos a participar en el estudio “Daño del glicocálix endotelial en niños con sepsis que reciben bolos de cristaloides no balanceados” Este estudio será conducido por la Universidad de la Sabana, la Universidad CES y la Fundación Cardioinfantil Instituto de Cardiología (FCI), y es importante que lea en detalle el siguiente documento.

El objetivo de estudio es describir las alteraciones que tienen 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, que miden los niveles de algunas partes de esta “gelatina”. Saber si está o no alterado la 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 recuperen más rápidamente de esta enfermedad tan grave que motiva el ingreso a cuidados intensivos de su hijo/a.

Si usted acepta que su hijo/hija participe en la investigación se realizarán las mediciones antes de colocar el suero, así como inmediatamente termine, a las 6 y 24 horas, en caso de que por su enfermedad el médico tratante ordene a las enfermeras un bolo 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 (equipo con video y cámara de alta resolución que permite ver las células de las venas y arterias de manera directa) 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.
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 (lactato, electrolitos, bicarbonato) que se miden de manera rutinaria en niños en cuidados intensivos. Esta muestra se tomarán de un catéter ubicada en una vena grande del cuerpo que su hijo ya tiene puesto y no implica ninguna punción adicional.

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.

Esta medición no tendrán ningún costo económico para usted ni su hijo/a. Se realizarán completamente gratis la medición que se hace con el equipo médico para medir la “gelatina” llamada glicocálix debajo de la lengua.

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 su hijo/a** la medición por primera vez en países de Suramérica y en Colombia del estado de sus vasos sanguíneos, 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. No obstante como está en investigación esto no representa un beneficio directo inmediato para 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 Dr. Jaime Fernández-Sarmiento, Director de la Unidad de Cuidados intensivos e investigador principal a la Unidad de Cuidado Intensivo Pediátrico de 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 que mi hijo (a) participe en el estudio “Daño del glicocálix endotelial en niños con sepsis que reciben bolos de cristaloides no balanceados”.

Nombre del niño/niña:

<p>Nombre del representante legal (padre o madre):</p> <hr/> <p>Cédula</p> <p>Parentesco</p> <p>Huella</p>	<p>Firma del acudiente:</p> <hr/> <p>Fecha : </p> <p> Día Mes Año</p>
--	---

<p>Nombre del Testigo 1</p>	<p>Firma del Testigo 1</p>
-----------------------------	----------------------------

<p>—</p> <p>Cédula: Parentesco:</p> <p>Dirección:</p> <p>Huella:</p>	<p>—</p> <p>Fecha : _____ _____ _____ </p> <p> Día Mes Año</p>
<p>Nombre del Testigo 2</p> <p>—</p> <p>Cédula:</p> <p>Parentesco:</p> <p>Dirección:</p> <p>Huella</p>	<p>Firma del Testigo 2</p> <p>—</p> <p>Fecha : _____ _____ _____ </p> <p> Día Mes Año</p>

<p>Nombre investigador principal:</p> <p> Jaime Fernández-Sarmiento</p> <p>Cédula:</p> <p>Huella:</p>	<p>Firma del investigador principal:</p> <p>—</p> <p>Fecha : _____ _____ _____ </p> <p> Día Mes Año</p>
--	---

Anexo 2. Herramienta de recolección de datos investigación

Identificación del paciente:

Nombre

Edad en meses

Peso:

Talla:

Seguridad social:

Historia clínica:

Escala PRISM III

Tipo de gases: Arteriales __ Venosos

Foco infeccioso: _____

Sepsis severa _____

Choque séptico _____

Hora inicio	Hora T0	Hora T1	Hora T2	Hora T3
Frecuencia cardíaca				
Presión arterial				
Tipo de Cristaloide				
Dosis				
PBR				
RBCs				
Lactato				
PH				
Bicarbonato				
PaO2				

PCO2				
Sodio				
Potasio				
Cloro				
Calcio iónico				
BUN				
Creatinina				
PCR				
Score vasoactivo				
Ferritina				
PCR				

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

