



**Cambios en la microcirculación asociados al uso de infusiones de
Milrinona en niños con choque séptico**

Investigador principal

Carlos Mauricio Sarta Mantilla

Estudiante de posgrado en Cuidado Intensivo Pediátrico

Trabajo presentado como requisito para optar por el
título de Medicina crítica y cuidado intensivo pediátrico

Bogotá – Colombia

2023

Cambios en la microcirculación asociados al uso de infusiones de Milrinona en niños con choque séptico

Investigadores Principales

Carlos Mauricio Sarta Mantilla. MD

Jaime Fernández-Sarmiento. MD PhD.

Lorena Acevedo Sedano MD.

Hernando Mulett Hoyos MD.

Coinvestigadores

Andrés Nieto

Natalia Lucena

Escuela de medicina y ciencias de la Salud

Medicina intensiva y cuidado crítico pediátrico

Universidad del Rosario

Bogotá – Colombia

2023

Identificación del proyecto

Institución académica: Universidad del Rosario

Dependencia: Escuela de medicina y ciencia de la salud

Título de la investigación: Cambios en la microcirculación, el endotelio y su glicocálix asociados al uso de infusiones de milrinona en niños con choque séptico hospitalizados en cuidado crítico

Instituciones participantes: La Cardio.

Tipo de investigación: Descriptiva

Investigadores principales: Carlos Mauricio Sarta Mantilla, Jaime Fernández Sarmiento, Lorena Acevedo Cedano, Hernando Mulett Hoyos

Investigadores asociados: Andrés Nieto, Natalia Lucena Nuñez

Asesor clínico o temático: Jaime Fernández Sarmiento

Asesor metodológico: Lorena Acevedo Cedano

Agradecimiento

Quiero agradecer a mi esposa Daniela por todo el apoyo durante todo este proceso, por darme la mano, acompañarme y motivarme a cumplir con esta meta de la segunda especialidad. A mi hija Sofia que en los últimos meses le dio un giro a mi vida y me motiva día a día a ser mejor médico y mejor pediatra.

A mis padres (Benjamin y Fanny) quienes han sido mi guía, quienes han dado todo el ejemplo de perseverancia, resiliencia y juicio.

A mis docentes y amigos el Dr. Jaime Fernández y el Dr. Hernando Mulett quienes desde hace más de 10 años me han llevado por el camino del cuidado intensivo, me han formado en el ámbito académico, profesional y espiritual para hoy ser el medico que soy, sin duda son las piezas más fuertes en mí que hacer diario, creadores de conocimiento y retos en mi desempeño profesional.

1. Contenido

1. Introducción	12
1. Planteamiento del problema	11
2. Justificación	12
2. Marco Teórico	14
3. Pregunta de investigación.....	36
4. Objetivos	37
1. Objetivo general.....	37
2. Objetivos específicos.....	37
5. Formulación de hipótesis	38
6. Metodología.....	39
1. Tipo y diseño de estudio	40
2. Población y muestra.....	41
3. Enfoque de la investigación	39
4. Criterios de inclusión y exclusión.....	39
5. Diseño Muestral	40
6. Muestreo: Se realizará un muestreo no probabilístico por conveniencia.....	40
7. Tamaño de muestra	40
8. ión.	40
40	
9. Definición y operacionalización de variables.....	41
9.1. Definiciones:.....	41
9.2. Operacionalización de variables	42
10. Técnicas, procedimientos e instrumentos de la recolección de datos.....	48
11. Plan de procesamiento de muestras biológicas	49
12. Plan análisis de datos	49
13. Alcances y límites de la investigación	50
7. Aspectos éticos	52
1. Equipo de investigación	52
2. Categoría de la investigación	52

3. Población sujeta de investigación.....	53
4. Proceso de obtención de consentimiento informado	¡Error! Marcador no definido.
5. Uso de datos personales	53
6. Riesgos y Beneficios	54
7. Titularidad de la información.....	¡Error! Marcador no definido.
8. Criterios que se tendrá en cuenta para definir la autoría de los productos de investigación.....	¡Error! Marcador no definido.
8. Administración del proyecto.....	55
8.1 Presupuesto	55
8.2 Cronograma.....	56
9. Resultados	¡Error! Marcador no definido.
10. Discusión	
11. Conclusiones	
12. Referencias	

1. INFORMACIÓN GENERAL DEL PROYECTO

Grupo de Investigación de la FCI-IC:

Título del proyecto: Cambios en la microcirculación, el endotelio y su glicocálix asociados al uso de infusiones de milrinona en niños con choque séptico hospitalizados en cuidado crítico.

Investigador principal FCI: Dr. Jaime Fernández-Sarmiento MD PhD (FCI-IC). Dr Carlos Mauricio Sarta MD (Universidad del Rosario), Dr. Hernando Mulett-Hoyos MD (FCI-IC), Dra. Lorena Acevedo MD (FCI-IC)

Co- investigadores: Andrés Nieto (Médico Interno Universidad del Rosario), Natalia Fernanda Lucena Núñez (Médica general)
--

Correo electrónico: jfernandez@lacardio.org / jaimefe@unisabana.edu.co
--

Teléfono – extensión: 6672727 ext 32004
--

1. Resumen

Objetivos: Evaluar los cambios en la microcirculación asociados al uso del milrinona en niños con sepsis. Se utilizó videomicroscopía sublingual para medir flujo y densidad capilar (DC) y región límite perfundida (PBR, parámetro inverso del grosor del glicocálix). El desenlace primario fue los cambios en la microcirculación asociados al uso de milrinona al ingreso y a las 24 horas.

Diseño: Cohorte prospectiva realizado de Febrero 2021 – Enero 2022

Lugar: Unidad de cuidados intensivos pediátricos (UCIP) en hospital universitario.

Pacientes: Niños con sepsis/choque séptico con y sin infusión de milrinona.

Intervención: Ninguna

Métodos y resultados principales: Se incluyeron 140 niños (mediana edad 2 años RIQ 0.58-12.1). El 58% de los pacientes recibieron infusión de milrinona. La DC se mantuvo en el grupo que recibió milrinona comparado con el grupo que no recibió ($p < 0.01$). Los menores de dos años con milrinona, tenían mejor DC comparado con los niños mayores (50% vs 25%; OR 0.33; CI 95% 0.12-0.89; $p = 0.02$). En el análisis multivariado controlando variables confusoras los niños que recibieron milrinona tenían menos degradación del glicocálix endotelial comparado con los que no lo recibieron (aOR 0.34 CI 95% 0.11-0.99; $p = 0.04$). Estos cambios se mantenían a pesar de ferritina y proteína C reactiva elevadas (aOR 0.41; CI 95% 0.18-0.93; $p = 0.03$).

Conclusiones: En niños con sepsis, el uso de milrinona se asoció a cambios en la microcirculación. Se encontró persistencia de reclutamiento de capilares luego de 24 horas de su administración, menos heterogeneidad del flujo sanguíneo capilar y menos degradación del glicocálix.

Palabras Clave: Choque Séptico Sepsis, Endotelio, Microcirculación, Reanimación hídrica, Matrix extracelular, Permeabilidad vascular, Glicocálix.

Abstract

Objectives: To evaluate changes in microcirculation (capillary density - blood flow) and the endothelial glycocalyx associated with using milrinone in children with sepsis. Sublingual videomicroscopy was used to assess capillary density (DC4-6 microns and DC7-25 microns), microvascular flow index, and perfused blood region (perfusion boundary region (PBR), inverse parameter of glycocalyx thickness - abnormal > 2.0 microns). The primary outcome was the association between changes in microcirculation and the endothelial glycocalyx related to milrinone use.

Design: Prospective cohort study from February 2021 - January 2022.

Place: 12-bed pediatric intensive care unit (PICU) in a university hospital.

Patients: Children with sepsis/septic shock with and without milrinone infusion.

Intervention: None

Methods and Main Results: 140 children with a mean age of 2 years (IQR 0.58-12.1) were included. Fifty-eight percent (81/140) of patients received milrinone infusion. The main focus of infection was respiratory (43/140;30.7%). After 24 hours of administering milrinone, it was observed that capillary density (4-6 microns) was maintained only in this group ($p<0.01$). Children younger than two years who received milrinone had better DC4-6 than older ones (OR 0.33; CI 95% 0.12-0.89; $p=0.02$). In milrinone patients, capillary blood flow was more homogeneous and capillary recruitment capacity was maintained ($p<0.05$). Additionally, these children had less endothelial glycocalyx degradation (aOR 0.34 CI 95% 0.11-0.99; $p=0.04$), which was maintained despite elevated ferritin and C-reactive protein (aOR 0.41; CI 95% 0.18-0.93; $p=0.03$). The group without milrinone had more organ failure associated with microcirculation dysfunction, glycocalyx degradation ($p<0.01$) and a lower number of functional recruited capillaries ($p<0.01$). Elevated PBR was associated with mortality in both groups ($p=0.04$).

Conclusions: in this investigation of children with sepsis, we found that milrinone was associated with changes in microcirculation. We found persistence of capillary recruitment of 4-6 microns after 24 hours of its administration, and maintenance and less heterogeneity

of capillary blood flow as well as less degradation of the glycocalyx, particularly in children under two years of age.

Introducción

1. Planteamiento del problema

La sepsis es una condición frecuente en la población que ingresa a la unidad de cuidado intensivo pediátrico. La incidencia mundial de esta patología se aproxima a la población general de un país como Colombia, reportándose en un estudio publicado en el 2017 aproximadamente 48.900.000 casos al año en el mundo (1). Las infecciones respiratorias y gastrointestinales son las principales causas de mortalidad en la primera infancia, asociándose principalmente a sepsis y choque séptico (2). Se reporta que aproximadamente un tercio de los pacientes que fallecen en la unidad de cuidado intensivo cursó con sepsis. En el estudio anteriormente mencionado, la mortalidad anual por sepsis fue de once millones (3).

La sepsis es un síndrome clínico que se caracteriza por una respuesta inapropiada del huésped a las infecciones que genera liberación de mediadores inflamatorios y antiinflamatorios, resultando en la alteración de la macro y microcirculación, donde el glicocálix es un componente fundamente; Llevando a manifestaciones clínicas en el organismo(4). El glicocálix fue descrito por Luft en 1966, como una capa que recubre las células endoteliales compuesta por glicoproteínas y glicosaminoglicanos, que ayudan a mantener la homeóstasis endotelial (5). Para cumplir con esta misión, el glicocálix tiene 4 funciones especiales: 1) regular el tono vascular; 2) evitar la adhesión de los leucocitos al endotelio; 3) disminuir la agregación plaquetaria; 4) regular la permeabilidad vascular (6).

Recientes investigaciones han demostrado alteraciones en el glicocálix como un papel fundamental en la fisiopatología de la sepsis (7). El daño del glicocálix se genera en los pacientes con sepsis por un fenómeno mecánico con la infusión de líquidos endovenosos a grandes velocidades, y por el aumento de citoquinas inflamatorias propias de la respuesta inflamatoria sistémica (8).

Se describe que cerca del 40% de los pacientes con choque séptico presentan disfunción miocárdica; para esto, el medicamento que se utiliza con más frecuencia es la Milrinona por sus propiedades inodilatadoras que mejoran el gasto cardíaco desde la microcirculación al disminuir la poscarga (9). Adicionalmente, tiene efecto lusitrópico, lo cual genera relajación

diastólica ventricular, mejorando así la función miocárdica(10). Estos efectos descritos se generan a nivel de la microcirculación. Se desconoce si el Milrinona afecta la microcirculación, el endotelio y su glicocálix; sin embargo, en modelos animales, el milrinona puede mejorar la microcirculación como consecuencia de la recuperación del gasto cardíaco. En humanos, aún no se ha establecido el efecto de éste a nivel endotelial y del glicocálix (11).

2. Justificación

La Sepsis es un síndrome clínico que compromete a toda la economía corporal, teniendo una alta morbi-mortalidad. Según la organización mundial de la salud (OMS), más de la mitad de la muertes en la primera infancia están relacionadas con sepsis y choque séptico, las primeras 4 de las 5 primeras causas de mortalidad infantil son debidas a infecciones como la Neumonía, Infecciones gastrointestinales, malaria y sarampión (12). Uno de los estudios más importantes que describe la epidemiología de la sepsis (SPROUT), reporta que aproximadamente el 8 % de los pacientes ingresados a la unidad de cuidado intensivo pediátrico presentan sepsis; casi la mitad de los casos se relacionan con infección respiratoria (40 %) y solo en la quinta parte se obtiene aislamiento en los hemocultivos (13).

Existen estudios que describen la importancia del glicocálix en la fisiopatología de la sepsis y el choque séptico (14,15,16). Encontrar los efectos sobre la microcirculación de medicamentos de uso frecuente como la milrinona, pueden ser de gran ayuda para orientar la optimización de la entrega de oxígeno a los tejidos. Hasta ahora, son pocos los fármacos que han demostrado en modelos animales tener un efecto sobre la microcirculación (17). Conocer si la milrinona afecta de manera positiva o negativa la recuperación del glicocálix endotelial, permite evaluar sus efectos a nivel sistémico y como contribuye a la estabilización del endotelio activado en sepsis.

2. Marco Teórico

1.1 Introducción

La sepsis es uno de los problemas infecciosos más frecuentes en niños y una de las principales causas de morbimortalidad. Es una condición que genera compromiso sistémico, caracterizada por afectar a todos los grupos etarios, desde la etapa neonatal hasta la edad adulta, con consecuencias funcionales graves, generando un consumo considerable de recursos propios del sistema de salud (18). Se han planteado múltiples estrategias para el tratamiento de la sepsis y choque séptico que han mostrado resultados favorables en términos de mortalidad, como lo son el reconocimiento temprano, la reanimación hídrica, la administración de oxígeno, el inicio en la primera hora del antibiótico y el inicio de vasopresor de forma oportuna (19).

El endotelio, con frecuencia es uno de los órganos que primero se ve afectado por los procesos inflamatorios, protrombóticos y fibrinolíticos asociados a la sepsis(20). 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 de evitar el paso de líquidos del espacio intravascular al extravascular(21). 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 (22).

1.2 Endotelio vascular

El endotelio vascular es una pequeña capa de células que recubre el lado endoluminal de los vasos sanguíneos (18). En un individuo normal, si se pudiera aislar todo este órgano de manera selectiva, tendría un peso de 1 kilogramo 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”. El endotelio es un órgano responsable del tono vascular, la hemostasia y el intercambio de solutos y líquidos con la célula (23). La disfunción de éste es responsable de enfermedades sistémicas como la aterosclerosis, la sepsis, la diabetes, la hipertensión arterial y la trombosis, entre otros (24).

La principal función del endotelio 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, los cuales son vasodilatadores. Estas sustancias están en íntimo equilibrio con otro grupo de moléculas mediadoras de la vasoconstricción como la endotelina-1, la angiotensina II y el tromboxano A2 (22).

1.2.1 Estructura del endotelio vascular

El endotelio está constituido por células endoteliales generalmente planas, pudiendo encontrar algunas cuboides con grosor entre de 0.1 μm en capilares y venas, hasta 1.0 μm en la aorta. Para cumplir su función, estas células están generalmente unidas a través de diferentes tipos de complejos multiproteicos llamados uniones intercelulares (18, 25). Existen diferentes tipos de uniones, siendo las más importantes las uniones fuertes u ocluyentes conocidas como zona ocludens, las cuales están constituidas por proteínas como las claudinas, ocludinas y las moléculas de adhesión intercelular; y las uniones débiles o adherentes llamadas zona adherens constituidas únicamente por una proteína transmembrana denominada cadherina (26).

El transporte de la célula endotelial hacia el espacio intersticial se realiza en un 90% por vía paracelular, y en un 10% por vía transcelular. Esto se da por medio de vesículas y caveolas ubicadas a lo largo de la superficie luminal de la célula, capaces de moverse a la cara basal de la misma para cumplir con su función (21, 27).

El endotelio está cubierto por una fina capa denominada glicocáliz la cual está distribuida en todo el organismo de manera continua, discontinua o fenestrada. Ésta es responsable de contribuir a que el endotelio cumpla la mayoría de sus funciones, entre las cuales se encuentra el regular en mayor o menor medida el paso de líquidos y moléculas al espacio intersticial.

1.2.2 Estructura del glicocáliz endotelial

El glicocáliz es una fina capa que recubre el interior de los vasos sanguíneos, desde los capilares hasta las arterias y venas, formando así una interface entre las células endoteliales y el flujo sanguíneo (28). 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

con el que se observa como un material amorfo y grumoso, y, el azul de anciano que lo muestra con apariencia de una malla de finos filamentos(29). Como se ha mencionado, el glicocálix constituye una porción estructural del endotelio y contribuye a mantener su integridad. En cultivos de células endoteliales se ha logrado aislar desde la primera semana. En modelos animales, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, por ejemplo, en sepsis, se ha observado que, luego de su lesión aguda, se necesitan de cinco a siete días para su restauración endógena y recuperación de su funcionalidad (30).

El glicocálix está constituido por proteoglicanos (PG), glicosaminoglicanos (GAG) y glicoproteínas que constituyen los componentes no solubles dependientes de la célula endotelial. Entre un 50% al 90% del componente PG, corresponde a los derivados del heparán sulfato como los sindecanos, glicopiranos y perlecanos, los cuales están anclados a la célula endotelial a través del dominio transmembranal de su core proteico(31,32) . Estos componentes se consideran el eje principal del glicocálix, a los cuales están unidas las cadenas de GAG que llevan a la producción de PG solubles ubicados en la parte superior de esta estructura. Por otro lado, está el ácido hialurónico, un GAG no sulfatado que se encuentra en la parte más superficial del glicocálix (33).

Los GAG contienen múltiples sitios de unión para proteínas derivadas del plasma y pequeñas modificaciones bioquímicas de éste puede generar consecuencias funcionales importantes, en especial en circunstancias que pueden llevar a disminuir el grosor del glicocálix(34). El componente de glicoproteínas está dominado por moléculas de adhesión como la selectina-E, selectina-P e integrinas, así como complejos proteicos relevantes en hemostasia como el complejo glicoproteína Ib-IX-V (que se une al factor de von Willebrand y a la P-selectina), mediando así la interacción de las plaquetas con las células endoteliales activadas (35).

Por otro lado, el glicocálix tiene un componente soluble constituido por moléculas como proteínas y proteoglicanos que son producidos por el endotelio o vienen de la circulación sistémica (36). Éste interactúa con componentes anclados a la célula endotelial, generando un equilibrio dinámico con el flujo sanguíneo de acuerdo a las condiciones del microambiente como el pH y la producción del componente insoluble por la célula endotelial(27,28,29). El glicocálix puede 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 a los GAG, particularmente al heparán sulfato, que contiene varios sitios de unión para proteínas gracias a sus patrones específicos de sulfatación (37).

1.2.3 Funciones del glicocálix endotelial

El glicocálix funciona como una capa protectora de la célula endotelial, regulando la permeabilidad de algunas moléculas desde y hacia la célula endotelial, además de regular los procesos asociados a la filtración glomerular (38). Van Haaren y Cols. demostraron que esta estructura es la responsable de los cambios en la permeabilidad del agua por fuerzas de tensión, por lo que su integralidad es la responsable de proteger del edema(39). Así mismo, Hans 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 (40). Éste también es un elemento fundamental para la detección y transducción de fuerzas mecánicas en la vasculatura (mecanotransducción) y para la regulación del hematocrito, los procesos de adhesión celular al endotelio (plaquetas y leucocitos) y la hemostasia(41). El heparán sulfato y el ácido hialurónico tienen un papel fundamental en la detección y amplificación de las fuerzas de cizallamiento, tal y como lo evidenciaron Mochizuki S y cols. empleando modelos caninos, demostraron que la liberación de óxido nítrico por la célula endotelial estaría regulada en parte por el glicocálix y esto controlaría los cambios en la estructura del endotelio relacionado con las fuerzas de shear-stress(42). Esto indica que el glicocálix tendría efectos vasculoprotectores mediados por la liberación de óxido nítrico, favorecidos por las fuerzas de shear-stress, 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 (43).

De la misma manera, el glicocálix regula el paso de macromoléculas como las lipoproteínas de alta densidad y la albúmina, hacia el espacio extravascular. 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 electrostática, lo que a su vez evita su paso al espacio intersticial(44). Lo anterior

se relaciona en parte con el grosor del glicocálix, el cual cambia de acuerdo a la región de los vasos sanguíneos en la que se encuentre ubicado; así como lo reportan Kudo y cols. quienes evidenciaron en cultivo de células endoteliales bovinas, 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 (45).

Teniendo en cuenta la evidencia actual y el papel fundamental del glicocálix en el paso de líquido y macromoléculas del espacio intravascular al espacio intersticial e intracelular, y su importante espectro de manifestaciones clínicas cuando se encuentra alterado, 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 por la carga negativa de la superficie. Por el contrario, 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 (41-43).

1.2.4 Marcadores de daño de la integridad endotelial

1.2.4.1 Marcadores de daño al glicocálix

Se ha tratado de medir la lesión del glicocálix mediante el uso de biomarcadores plasmáticos que permitan establecer de manera rápida la presencia de alteración o no del mismo. Entre los principales biomarcadores están el sindecano- 1, sindecano- 4, el endocan y el heparán sulfato (46).

El Sindecano -1 es uno de los PG más importantes dentro de la estructura del glicocálix; sus niveles circulantes en plasma se relacionan con daño endotelial y degradación del mismo. 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(45, 46). Sin embargo, en pacientes con sepsis, niveles mayores a 80 ng/ml se han relacionado con mayor severidad y compromiso multiorgánico (47). Annecke 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 (48). Suzuki y cols. obtuvieron hallazgos similares en pacientes con trauma, donde niveles de sindecano-1 mayores a 40 ngr/ml se asociaron a peores desenlaces, mayor necesidad de transfusiones y a un mayor riesgo de mortalidad, frente a quienes las cifras no superan dicho nivel(49).

El Sindecano-4 es un PG 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 y por las integrinas. Adicionalmente, el dominio intracitoplasmático del sindecano-4 activa varias vías de señalización mediadas por la vía del fosfatidil-inositol, proteína quinasa, entre otros(50). 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 (51).

El Heparán sulfato es un PG que puede elevarse en pacientes críticos. Particularmente en pacientes con sepsis, se han encontrado niveles cuatro veces superiores a los observados en controles sin infección en pacientes sometidos a procedimientos quirúrgicos (52). Nelson y cols. describieron la elevación del heparán sulfato en pacientes sépticos, encontraron que en los pacientes que murieron los niveles de Heparán Sulfato eran mayores(53).

El Endocan es un PG 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 considera un biomarcador prometedor que relaciona la lesión del glicocálix y los desenlaces en pacientes sépticos (54).

Aun no es posible evaluar el glicocálix 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, lo que permite determinar la amplitud que corresponde al glicocálix. Recientemente, se ha desarrollado un 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 de perfundida (PBR de sus siglas en inglés), la cual se relaciona de manera inversamente proporcional con el tamaño del glicocálix (55).

1.2.3.4. Videomicroscopia sublingual

La microscopía sublingual se considera actualmente como el estándar de oro para la evaluación de la microcirculación. La microscopía sublingual se ha convertido en una herramienta valiosa para evaluar la microcirculación en tiempo real, La mucosa sublingual es rica en vasos sanguíneos pequeños, como arteriolas, capilares y vénulas, lo que permite la observación directa de la microcirculación en esta área. La microscopía sublingual proporciona información detallada sobre la estructura y función de los vasos sanguíneos a nivel microscópico. Con esta técnica, se pueden evaluar parámetros microvasculares importantes, como la densidad capilar, el flujo sanguíneo, la perfusión tisular, la reactividad vascular y la región región límite de perfusión (PBR) (56).

Como se dijo anteriormente el PBR es una medida inversamente proporcional con el tamaño del Glicocálix endotelial, así, un PBR alto indica menor grosor del glicocálix. Se ha demostrado que el PBR se encuentra muy elevado en pacientes críticos al comparar su valor con sujetos sanos. En pacientes con sepsis se considera que un PBR mayor de 2.0 μm es indicativo de lesión severa del glicocálix endotelial (57).

De igual manera, este videomicroscopio que genera 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, los cuales detectan los glóbulos rojos por reflexión, amplía 325 veces la imagen con resolución de 720 pixeles y establece 23 cuadros por segundo. El software 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 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, o dicho de otra manera, corresponde al ancho de los glóbulos rojos. Esta medición toma en promedio de 2 a 3 minutos (55-58).

1.2.4.2 Marcadores de daño de la célula endotelial

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 (8). Estructuralmente, el endotelio puede ser discontinuo o continuo. Como se describió previamente, en el endotelio continuo existen uniones intercelulares estrechas que puede ser la zonula adherente o zónula ocludens; en esta última, participan las claudinas, las ocludinas y las moléculas de adhesión(17). Cuando se alteran estas uniones intercelulares, se incrementa la permeabilidad vascular, permitiendo el paso de líquidos, proteínas y células desde el espacio intravascular al intersticial(18). 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 (59).

En condiciones inflamatorias como la sepsis, la Ang-2 se eleva e interactúa con proteínas de unión intercelular endotelial como la 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 considerada un biomarcador de activación de la célula endotelial y de aumento de la permeabilidad vascular. 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 genera protección del 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 conocen las repercusiones que tendría la elevación de la Ang-2 en dicha estructura (60).

La anexina A5 es una proteína plasmática que tiene fuerte afinidad por la fosfatidilserina, un fosfolípido de la membrana celular. Cuando la célula sufre apoptosis, la fosfatidilserina se externaliza y, por ende, se une a la anexina A5, lo que la convierte en un biomarcador de apoptosis, en especial, en enfermedades cardiovasculares y las relacionadas con lesión endotelial posterior a inflamación y estrés celular. Al parecer, esta proteína 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(61).

1.3 Sepsis pediátrica

1.3.1 Definición

Anteriormente no existía una definición unificada de sepsis, se conocía la sepsis como síndrome de sepsis, septicemia, choque séptico, entre otros. Fue hasta abril de 1990 cuando Bone y cols. realizaron el primer consenso de medicina crítica y cirugía de tórax sobre la definición de sepsis, con el fin de unificar criterios y poder llevar a cabo investigaciones para mejorar los desenlaces en esta patología. En este, sugirieron el término Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS), considerando que podría ser explicado por diferentes orígenes de tipo tumoral, traumático o infeccioso (62).

La definición de sepsis en adultos descrita por Bone y cols. Se adoptó para la población pediátrica, sin embargo, estos criterios podían ser valores normales para esta población por lo cual, en el año 2005, Goldstein y cols. Redefinieron los criterios para sepsis, sepsis grave y choque séptico en pediatría, además redefinieron la definición de disfunción multiorgánica (63).

Recientemente se publicó en las guías Latinoamericanas, Se definió sepsis como un síndrome clínico caracterizado por disfunción orgánica, potencialmente mortal causada por una respuesta no regulada del huésped a una infección. Así mismo se definió choque séptico

como sepsis acompañada de anomalías, circulatorias, celulares y metabólicas asociadas con mayor riesgo de mortalidad que la sepsis por si sola (64).

1.3.2 Epidemiología

Actualmente, la sepsis sigue siendo la principal causa de ingreso a cuidados intensivos de los pacientes adultos, con una mortalidad del 28%, se reporta que afecta a uno de cada cuatro pacientes pediátricos ingresados en cuidado crítico (3). La Sociedad Americana de Cuidado Crítico ha realizado múltiples reuniones de consenso con la intención de identificar de manera temprana la sepsis para reducir la mortalidad. Las reuniones fueron realizadas en el 2002, 2007 y 2014, pero se publicaron las conclusiones hasta el año 2017, donde reportan que la mortalidad infantil por sepsis pediátrica se redujo del 96 % al 9 %, siendo esta cifra menor que la de la población adulta que reporta una mortalidad el 28 % (65). 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 Estados Unidos (42.000 casos/año). Se reporta que en Estados Unidos 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 derivado de la atención de la sepsis pediátrica, es cerca de 50 millones de dólares (1-3). Es por esto que la detección temprana, la intervención oportuna y una reanimación hídrica adecuada, pueden modificar el curso clínico de la enfermedad, logrando reducir incluso un 50 % de la mortalidad (64).

Además, como lo demostraron Fernandez y cols., utilizando estrategias de reconocimiento temprano, reanimación hídrica adecuada, inicio rápido de antibiótico y vasopresores, se puede lograr 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 (16).

1.3.3 Manifestaciones clínicas y criterios de severidad en sepsis

La sospecha clínica y un examen físico detallado, permiten detectar a tiempo los signos que indican que el paciente cursa con un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, y que éste se debe a una infección, es decir, que está cursando con sepsis. La presentación clínica puede variar de acuerdo a factores como la edad, el foco de la infección, el organismo

responsable y las comorbilidades asociadas. Sin embargo, con frecuencia estos signos no son específicos, por lo cual 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. En la tabla 1 se listan los diferentes criterios (63).

En los pacientes pediátricos, la presencia de taquicardia es uno de los signos más frecuentes e importantes, ya que indica que el organismo intenta compensar su bajo gasto cardíaco con un aumento de la frecuencia cardíaca; sin embargo, la bradicardia es otra manifestación, que podría presentarse luego de que se han agotado todos los mecanismos compensatorios adrenérgicos habituales (66). Así mismo, la taquipnea suele ser frecuente, y cuando es sostenida, asociada al uso de músculos accesorios de la respiración y acompañada de otros signos de SIRS, suele indicar que el paciente está intentando estabilizar un trastorno de oxigenación severo con un aumento de la frecuencia respiratoria. La no identificación o control de esta patología, puede progresar a sepsis severa, que se refiere a la presencia del síndrome con disfunción de un órgano, que suele ser cardiovascular o respiratorio (63). Cuando hay falla de uno de estos dos asociado a la disfunción del sistema hematológico, renal, el neurológico y el tracto gastrointestinal. En la sepsis severa, el sistema cardiovascular suele estar afectado y se manifiesta con 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 se inicia a tiempo (67).

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

La presencia de al menos dos de los cuatro siguientes criterios, uno de los cuales debe ser anormalidad en temperatura o conteo de leucocitos.

1. Temperatura corporal de $> 38.5^{\circ} \text{C}$ o $< 36^{\circ} \text{C}$.
2. Taquicardia, definida como frecuencia cardíaca $> 2 \text{ SD}$ 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.
3. 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.
4. Polipnea, definida como frecuencia respiratoria $> 2 \text{ SD}$ 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.
5. Leucocitosis o leucopenia para la edad (no secundaria a quimioterapia) o $> 10\%$ neutrófilos inmaduros.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, si el foco infeccioso es respiratorio como se presenta en el 56 % de los casos de sepsis en niños, este puede manifestarse además de los síntomas respiratorios como la taquipnea, también con tos, rinorrea y distrés respiratorio (3).

A nivel hematológico, renal y neurológico, la sintomatología suele ser bizarra y habitualmente se presenta en fases avanzadas de la enfermedad manifestada como sangrado, isquemia de extremidades, oliguria indicando, alteraciones de la consciencia, debilidad muscular y convulsiones. Cuando la enfermedad avanza y pasa de sepsis severa a choque séptico, el signo característico el compromiso cardiovascular manifestado por taquicardia, mala perfusión e hipotensión que no responde a reanimación hídrica y necesita el uso de fármacos vasoactivos(63). (Tabla 2).

Tabla 2. Definición de Falla Orgánica en sepsis

Falla de órgano Cardiovascular: cuando a pesar de la administración de bolos completando mínimo 40 ml / kg en 1 hora:

- 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:
 - 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.

Falla de órgano Respiratorio:

- 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.

Falla de órgano Neurológico:

- 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>Falla de órgano Hematológica:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Plaquetas $\leq 80.000/mm^3$, 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>Falla de órgano 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>Falla de órgano Hepática:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bilirrubina total de 4 mg/dl, o ALT dos veces el límite superior de la normal para la edad.

1.3.4 Fisiopatología de la sepsis

La sepsis es una respuesta no regulada del hospedero a una infección y que puede ser potencialmente fatal si no se reconoce y se trata de manera oportuna (64). Ocurre por 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). Estos receptores se han descrito como responsables de iniciar la cascada inflamatoria y están en 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). Estos interactúan con los 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. También interactúan 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(68).

En cuanto a los receptores Toll (TLR), una vez se une el ligando, participan una serie de moléculas intracelulares (como el TIRAP, MyD88) con función de adaptación 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 inflamasoma, el cual promueve la maduración de interleucina (IL) 1- β e IL-18, llevando a la formación de poros que facilitan la entrada de agua y electrolitos, ocurriendo la muerte celular (69).

Entre las citoquinas más importantes están el factor de necrosis tumoral alfa (FNT-alfa), la IL-1 β y la IL-6. Estas citoquinas inducen la activación del endotelio y lesión del glicocálix, permitiendo la migración de leucocitos a través de la inducción de la expresión de moléculas de adhesión endoteliales, en especial aquellas del grupo de las E selectinas, de manera que ocurra la extravasación leucocitaria. En esta fase fisiopatológica de la sepsis, derivado del compromiso endotelial y otros factores, se libera el factor tisular. Este factor activa el sistema de la coagulación, favoreciendo un estado procoagulante y antifibrinolítico que predispone a la formación de microtrombos a nivel capilar; comprometiendo a su vez, la entrega de oxígeno a los tejidos, de modo tal que se produce la liberación de radicales libres, los cuales son en parte responsables de múltiples manifestaciones clínicas cardiovasculares, respiratorias y renales. Uno de los mecanismos que favorece a la disfunción multisistémica, es la alteración en la relación entrega/demanda de oxígeno, que puede verse altera por varios mecanismo, comprometiendo el funcionamiento adecuado de las células(70).

1.3.4.1 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 importantes para la economía corporal, la biología vascular y para mantener el equilibrio del espacio intra y extravascular. Este es un

órgano metabólicamente activo, siendo una de sus responsabilidades fundamentales, 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(16-18).

Una de las responsabilidades más importantes del endotelio es mantener el flujo vascular evitando que se active el sistema de la coagulación, por medio de mantener un fenotipo “anti-adherente” que conserva 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 (57).

La sepsis se ha considerado un estado procoagulante y antifibrinolítico, existiendo una predisposición natural a formar coágulos que obstruyen la microcirculación, favorecen la perfusión inadecuada y generación de radicales libres de oxígeno, lo que puede desencadenar el síndrome de falla orgánica múltiple(4). En condiciones normales, el endotelio evita la formación de esta microtrombosis y la alteración de la perfusión tisular por diferentes mecanismos que se mencionan en la tabla 3. En estos pacientes, existe activación de las células endoteliales que inducen al estado procoagulante mencionado, por disminución de la síntesis de la trombomodulina, 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. Además, existe una menor actividad del inhibidor del activador tisular del plasminógeno, predominando la actividad de éste, generando mayor producción de plasmina y una mayor degradación de la fibrina (71).

Una vez se inicia el proceso y 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, las células endoteliales interactúan con los leucocitos circulantes, produciéndose la marginación, rodamiento, adhesión firme y trans migración leucocitaria, de alcanzando los sitios lesionados. 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(72).

Son múltiples los mecanismos de daño del endotelio en la sepsis. Estos se relacionan con la activación de los polimorfonucleares con liberación de enzimas proteolíticas (elastasa y la lactoferrina) estimuladas por citoquinas (como el factor de necrosis tumoral alfa); también por la inducción directa de apoptosis de la célula endotelial por el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-6; la inducción de muerte celular por disminución de los niveles de ATP de las células endoteliales, en el contexto de los fenómenos de isquemia/reperfusión desencadenados por procesos protrombóticos y fibrinolíticos; y, por la 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 del factor tisular (71-72).

Tabla 3. Mecanismos reguladores del endotelio

Mecanismos reguladores del endotelio
<ol style="list-style-type: none">1. Expresión de trombomodulina, glicoproteína de la membrana de las células endoteliales que, al unirse a la trombina, forma el complejo trombomodulina-trombina. Este tiene un potente efecto anticoagulante al impedir el paso de fibrinógeno a fibrina, con lo que se inhibe la formación del coágulo. Adicionalmente, la trombomodulina ejerce su potente efecto anticoagulante uniéndose a la proteína C y su cofactor (proteína S), con lo que aumenta la actividad de esta proteína que inactiva a los factores Va y VIIIa de la coagulación.2. Glicocálix y 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.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 (agonista plaquetario como la difosfatasa de adenosina).7. Regulación del tono vascular por la producción de óxido nítrico y prostaciclina.

1.4 Estrategias terapéuticas en sepsis

1.4.1 Reanimación hídrica en sepsis

Las primeras recomendaciones del uso de reanimación hídrica con cristaloides en niños con sepsis se hicieron en 1991. 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, comparado con aquellos que no lo recibían(73). Maitland y cols. demostraron una reducción de la mortalidad en choque séptico por malaria del 18 % al 4 %, cuando se utilizó resucitación hídrica con albúmina comparada con cristaloides(74). Por el contrario, años más tarde, este último autor realizó el estudio FEAST, donde encontraron que pacientes con malaria que cursaban con anemia, tenían cifras de mortalidad mayores con el uso de reanimación hídrica con cristaloides(75). Respecto a los adultos, en el estudio SAFE se comparó el uso de la reanimación hídrica con albúmina vs. cristaloides en choque séptico, encontrando mejores desenlaces estadísticamente significativos, 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(73).

En cuanto 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 (77).

1.4.2.1 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 (78), 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(79).

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 glicocálix, 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(67,68).

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(57). Al lesionarse los GAG del glicocálix, 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 glicocálix 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(51).

Otro factor importante a tener en cuenta es el papel que tiene el glicocálix en la mecanotransducción endotelial. 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(57). Por lo tanto, poder establecer con objetividad el estado de la microcirculación con mediciones in vivo del endotelio o el glicocálix permitirían objetivizar las intervenciones y racionalizar los bolos de cristaloides, así como utilizar más precozmente los medicamentos vasoactivos cuando sean necesarios (80).

1.4.2.2. Uso de inodilataores en sepsis

Los inodilatadores son fármacos que actúan tanto como vasodilatadores, es decir, dilatan los vasos sanguíneos, como inotrópicos, lo que significa que mejoran la función contráctil del músculo cardíaco. Estos fármacos tienen la capacidad de mejorar tanto la perfusión sanguínea como la función cardíaca (81), lo que podría ser beneficioso en el tratamiento de la sepsis, ya que la disfunción cardiovascular es una característica común de esta condición (63).

La Milrinona es un fármaco de la clase de las fosfodiesterasas III (PDE-III) que actúa como inotrópico positivo y vasodilatador, inhibidores de la fosfodiesterasa 3 impiden la degradación del AMPc, aumentando así los niveles de cAMP intracelular y activando la vía cAMP-PKA, esto da como resultado, concentraciones elevadas de Ca^{++} durante la sístole y, por lo tanto, aumentando la fuerza de contracción miocárdica. La milrinona actúa como inotrópico y vasodilatador, aumentar la fuerza de contracción del músculo cardíaco, además, la milrinona también produce vasodilatación reduciendo la resistencia a la circulación mejorando el flujo sanguíneo (82). Ha sido estudiado en el contexto de sepsis debido a su capacidad para mejorar la función cardíaca y el flujo sanguíneo en los tejidos y órganos afectados. Estudios han evaluado el uso de milrinona en pacientes con sepsis y choque séptico, los resultados han sido controvertidos. En el estudio de Tomicic y cols. demostro que la inclusión de agentes inotrópicos mejoraba variables de la macro-hemodinamia como el índice cardiaco, parámetros de macro-perfusión como la Saturación venosa central, y de microcirculación como la diferencia veno-arterial de CO₂ y de en pacientes con choque séptico (83).

Algunos estudios han mostrado beneficios potenciales del uso de milrinona en la sepsis, mientras que otros estudios no han encontrado diferencias significativas en los resultados clínicos (84). En términos de la función cardíaca, se ha demostrado que el milrinona mejora la contractilidad del músculo cardíaco y puede aumentar el gasto cardíaco en pacientes con sepsis y disfunción cardiovascular (85). Además, el milrinona tiene propiedades vasodilatadoras, lo que puede mejorar el flujo sanguíneo y la perfusión tisular en los órganos afectados durante la sepsis.

A nivel de la microcirculación la Milrinona tienen efectos a través del AMPc en el manejo del calcio intracelular en el músculo liso vascular, lo que resulta en una disminución del tono arterial y venoso, esto lleva a disminución en la vasoconstricción arteriolar y a mejorar la densidad capilar funcional(86).

Miranda y Cols. Evaluaron en un estudio en Hamsters, los efectos de la milrinona sobre los cambios microcirculatorios relacionados con la endotoxemia luego de la administración endovenosa de lipopolisacáridos de *E. coli* y los comparó con los observados con el uso de norepinefrina, demostraron que la Milrinona (0.5 a 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) reducía la vasoconstricción arteriolar inducida por lipopolisacáridos, mejoraba la perfusión capilar y la respuesta inflamatoria. Los animales tratados con norepinefrina mostraron los mejores niveles de presión arterial media pero los peores valores de densidad capilar funcional entre todos los grupos endotoxémicos, esta respuesta que se evidenciaba era dosis dependiente, es decir se mejoraba el reclutamiento de los capilares al usar dosis iguales o mayores de 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ (87).

3. Pregunta de investigación

¿Cuál es la asociación entre la infusión de Milrinona y cambios en la microcirculación, en niños con choque séptico que están hospitalizados en la UCIP de LaCardio en Bogotá Colombia entre enero del 2021 y enero del 2023

P: Población: Niños con choque séptico

E: Exposición: Milrinona

C: Comparación: Sin milrinona

Outcome: los desenlaces son los cambios en la microcirculación, activación endotelial y degradación del glicocáliz.

Tiempo: entre Enero del 2021 y enero del 2023.

4. Objetivos

1. *Objetivo general*

Establecer la asociación entre el uso infusiones de milrinona y sus efectos sobre la microcirculación en niños con choque séptico hospitalizados en cuidado crítico en LaCardio entre enero del 2021 y enero del 2023.

2. *Objetivos específicos*

1. Describir las características demográficas y clínicas de la población a estudio
2. Analizar la relación entre la infusión de Milrinona y los cambios en la microcirculación (flujo sanguíneo y reclutamiento capilar) en niños con choque séptico.
3. Establecer en los pacientes con y sin infusión de milrinona los efectos sobre la activación endotelial medida con biomarcadores específicos (angiopoyetina -2) en niños con choque séptico.
4. Establecer los cambios en el glicocálix endotelial asociados al uso de infusiones de milrinona en niños con choque séptico.

5. Formulación de hipótesis

Hipótesis nula (H0)

Las infusiones de Milrinona en los niños con choque séptico no tienen ningún efecto sobre la microcirculación.

Hipótesis Alternativa (H1)

Las infusiones de Milrinona en los niños con choque séptico producen cambios en la microcirculación

6. Metodología

1. Tipo y diseño de estudio

Estudio observacional, analítico de cohortes retrospectiva. Pacientes que recibieron infusión de Milrinona Vs los que no la recibieron.

Grupo expuesto: niños con sepsis con infusión de milrinone

Grupo No expuesto: niños con sepsis SIN infusión de milrinone

Variable desenlace: cambios en la microcirculación medidos con videomicroscopia

2. Población a estudio

Pacientes entre 1 mes y 18 años con diagnóstico de choque séptico atendidos en la unidad de cuidados intensivos Pediátrico polivalente de la fundación Cardioinfantil-IC en la ciudad de Bogotá entre enero 2021 y enero del 2023.

3. Enfoque de la investigación

El enfoque es empírico, analítico, cuantitativo porque se medirán los fenómenos asociados a la microcirculación, utilizando métodos estadísticos, buscando probar hipótesis y con un método deductivo y secuencial, con el cual se busca ser preciso y poder generalizar nuestros resultados.

4. Criterios de inclusión y exclusión

4.1. Criterios de inclusión:

1. Niños entre 1 mes y 18 años con diagnóstico de choque séptico
2. Niños en quienes se midió en las primeras 24 horas desde el ingreso a UCIP la microcirculación con videomicroscopia sublingual.
3. Pacientes con y sin infusión de milrinona que cumplen con los dos criterios anteriores.

4.2. Criterios de exclusión:

1. Niños en muerte encefálica.
2. Pacientes con trauma craneoencefálico, diabetes descompensada, cardiopatía congénita que son condiciones descritas que alteran el glicocálix endotelial (57)
3. Pacientes en postoperatorio inmediato de corrección de cardiopatía congénita.

5. *Diseño Muestral*

5.1 Muestreo: Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia incluyendo de manera consecutiva a todos los pacientes que se hospitalizaron entre febrero de 2021 y enero de 2022 y que cumplieron los criterios de inclusión.

5.2 Tamaño de muestra

Se tomaron todos los pacientes que ingresaron a la unidad de cuidado intensivo pediátrico de LaCardio con diagnóstico de choque séptico que cumplieron con los criterios de inclusión y que no cumplan los criterios de exclusión.

La variable desenlace serán los cambios en la microcirculación asociados o no a la infusión de milrinona. El parámetro a detectar será la razón de momios (OR-al ser un estudio de características retrospectivas) de cambios en la microcirculación medido con videomicroscopia. Para una confianza del 95% y una potencia del 80%, considerando un error tipo I del 5% y un error tipo II del 20%, considerando que al menos el 20% de los pacientes tendrán cambios en la microcirculación, según los datos del estudio de Miranda y cols (87) y buscando detectar un OR de 3.0 (relación expuestos vs no expuestos) de acuerdo al mismo estudio de Miranda y cols (87) y a una investigación publicada recientemente por nuestro grupo (57) se consideró se requerían un total de 124 pacientes de los cuales 62 son del grupo expuesto (infusión de milrinona) y 62 del grupo no expuesto (sin infusión de Milrinona). El cálculo del tamaño de la muestra se realizó con el software Epidata versión 4.2 como se muestra a continuación.

Riesgo en expuestos	30%
----------------------------	------------

Riesgo en No expuestos	10 %
Riesgo Relativo a detectar	3
Razón no expuestos / expuestos	1,00
Nivel de confianza	95.0%

Potencia (%)	Tamaño de la muestra *		
	Expuestos	No expuestos	Total
80,0	62	62	124

6. Definición y operacionalización de variables

5.2.1 Definiciones:

- a. Variable Exposición: Niños con choque séptico con o sin infusión de Milrinona.
- b. Variable Desenlaces

-Proporción de cambios en el flujo sanguíneo y proporción de reclutamiento capilar medidos con video-microscopia en el grupo con y sin infusión de milrinona. El videomicroscopio sublingual (Glycocheck) como se describe en el marco teórico evalúa variables numéricas de la perfusión tisular y la microcirculación. Son enviadas al software para análisis, donde los investigadores no tienen ningún tipo de influencia sobre estos resultados.

-Proporción de cambio en el nivel de angiopoietina-2 como biomarcador de activación endotelial entre el grupo con y sin infusión de milrinona.

- Proporción de cambio en el glicocálix endotelial medido con videomicroscopia sublingual en el grupo con y sin infusión de milrinone. La variable que informa el

videomicroscopia de medición del glicocálix es la región límite perfundida (PBR de sus siglas en inglés / perfused boundary región) como se ha mencionado en el marco teórico. Se considera un valor normal menor a 2.0 micras. Todo valor mayor a 2.01 micras será considerado anormal.

c. Variables de confusión:

-Edad: consideramos que es una variable de confusión porque la etiología de la sepsis y la severidad puede ser diferentes en niños menores de dos años.

-Riesgo de mortalidad basal: el riesgo basal medido con la escala de severidad PIM-2 (Pedatric Index mortality) puede explicar el riesgo basal de desenlaces inadecuados por comorbilidades u otros problemas.

-Tipo de cristaloides recibido para la reanimación hídrica: como nuestro grupo lo describió previamente, el uso de soluciones no balanceadas como la SS 0.9%

6.1. Operacionalización de variables

Tabla 1. Operacionalización de variables

Nombre de la variable	Definición	Naturaleza	Escala	Unidades o categorías	Relación
Muerte	Pacientes fallecidos o no fallecidos durante el estudio	Nominal dicotómica	Si/no	Presente/ausente	Confusión

Nombre de la variable	Definición	Naturaleza	Escala	Unidades o categorías	Relación
Edad	Meses de vida desde el nacimiento hasta el día de inclusión en el estudio	Razón	Numero de meses cumplidos	Número	Exposición CONFUSIÓN
Peso	Medida de peso en la báscula del paciente al ingreso a la unidad de cuidado intensivo	Cuantitativa Razón - Continua	Peso en Kilogramos (Kg)	Kilogramos	Exposición
Sexo	Género fenotípico	Cualitativa Nominal - Dicotómica	Femenino/ Masculino	Femenino/Masculino	Exposición

Nombre de la variable	Definición	Naturaleza	Escala	Unidades o categorías	Relación
Choque Séptico	Sepsis con anomalías circulatorias, celulares y metabólicas, particularmente profundas asociado con un mayor riesgo de mortalidad que la sepsis por sí sola.	Cualitativa – Nominal – Politómica	Si o No	Si o No	Confusión
Disfunción multisistémica	Afección de 2 o más órganos debido a una misma causa	Nominal dicotómica	Si o No	Si o No	Desenlace
Puntaje PIM-2	Presencia o no de disfunción multisistémica	Continua	Numérica	Puntaje obtenido al aplicar la escala	Confusión
Sistema funcional afectado	Sistema afectado por la sepsis	Nominal	Sistema Afectado	Respiratorio, cardiovascular renal, neurológico, endocrino metabólico Gastro- intestinal Sistema nervioso central	Desenlace DEPENDIENTE

Nombre de la variable	Definición	Naturaleza	Escala	Unidades o categorías	Relación
Diagnóstico	Procedimiento por el cual se identifica una enfermedad, entidad nosológica, o estado patológico	Nominal	Descripción del diagnóstico	Sepsis, choque séptico, Disfunción multisistémica, Trasplante de hígado, Neumonía Síndrome de dificultad respiratoria (SDRA), Gastroenteritis, Posoperatorio, Leucemia, Meningitis, Encefalitis, síndrome inflamatorio multisistémico asociado a COVID, Kawasaki, Infección de vías urinarias, Trasplante renal, Miocarditis.	Exposición

Nombre de la variable	Definición	Naturaleza	Escala	Unidades o categorías	Relación
PBR	“Perfused Boundary Region”. Medida indirecta del grosor del glicocálix endotelial tomado en los tiempos	Cuantitativa - Razón - Continua	numérica	micras	Desenlace
PBR corregido	Medida indirecta corregida del grosor del glicocálix endotelial tomado en los tiempos	Cuantitativa - Razón - Continua	numérica	micras	Desenlace
Peor PBR	La peor medida del PBR tomado en los tiempos	Cuantitativa - Razón - Continua	numérica	micras	Desenlace
Porcentaje de flujo sanguíneo capilar	Proporción de sangre que esta llegando al capilar	Cuantitativa	numérica	porcentaje	Desenlace

Nombre de la variable	Definición	Naturaleza	Escala	Unidades o categorías	Relación
Angiopietina-2	Biomarcador de activación endotelial	Numérica cuantitativa continua	numérica	Mcgr/dl	Desenlace
Proteína C Reactiva de alta presión	Valor de proteína C reactiva de alta presión en el tiempo	Cuantitativa - Razón - Continua	numérica	mg/dL	Desenlace
Procalcitonina	Valor de Procalcitonina en el tiempo al ingreso y a las 24 horas	Cuantitativa - Razón - Continua	numérica	ng/dL	Desenlace
Albumina sérica	Valor sérico de la albumina en el tiempo	Cuantitativa - Razón - Continua	numérica	g/dL	Desenlace
Ferritina	Valor sérico de la ferritina en el tiempo	Cuantitativa - Razón - Continua	numérica	ng/mL	Desenlace
Infusión de vasoactivos	Administración de medicamentos vasopresores de forma continua	Cualitativa - Nominal - Dicotómica	Si o No	Si o No	Confusión

Nombre de la variable	Definición	Naturaleza	Escala	Unidades o categorías	Relación
Balance de hídrico	Relación entre los líquidos administrados y los eliminados	Cuantitativa Razón - Continua	Balance hídrico total en el tiempo	mL	Desenlace
Estancia hospitalaria	Días desde el ingreso a la unidad hasta el momento de egreso de la UCIP	Cuantitativa Razón - Continua	Número de días	Días	Desenlace
Mortalidad a las 24 horas de ingreso a UCIP	Mortalidad en las primeras 24 horas del ingreso a UCIP	Cualitativa, Nominal, Dicotómica	Si o No	Si o No	Desenlace

7. Técnicas, procedimientos e instrumentos de la recolección de datos

Se incluyeron todos los pacientes que ingresen a UCIP en el periodo del estudio y que cumplan con los criterios de inclusión. El procedimiento de la atención de los niños con sepsis en la unidad de cuidado intensivo pediátrica incluyen los siguientes pasos:

- a. Ingresa el paciente, **FUE** es valorado por el equipo de médicos y enfermeras, los padres firman consentimiento informado de ingreso a cuidado intensivo pediátrica. Durante las primeras 24 horas de ingreso se realiza medición de la microcirculación sublingual con videomicroscopía.

- b. Durante este ingreso se tomaron los paraclínicos de rutina de cuidado intensivo pediátrica adicionalmente en las primeras 24 horas se toma angiopoietina -2 y cultivos
- c. Toda esta atención en el marco del paquete de medidas para sepsis, el cual en su atención no tendrá ningún retraso por la toma de videomicroscopia ni pruebas paraclínicas.

Los datos demográficos, de la microcirculación, biomarcadores y todas las variables consignadas en la hoja de Excel versión 16,73 diseñada para esta investigación, estarán guardadas en el computador de uno de los investigadores (MS) con clave exclusiva que solo conocerá este investigador. Los datos aquí obtenidos serán guardados por 2 años y NO se utilizaron para otros fines. Como el carácter de esta investigación es retrospectivo, la fuente primaria de información serán los datos consignados en la historia clínica y la base de datos de microcirculación que se lleva desarrollando en la unidad de cuidado intensivo pediátrica durante los últimos 4 años. Esta base de datos sólo es conocida por uno de los investigadores (JFS) y los datos que se necesitan para esta investigación, serán extraídos y consolidados en el Excel descrito.

5.3 Plan de procesamiento de muestras biológicas

5.4 Plan análisis de datos

Se realizó descripción de las variables de acuerdo a su naturaleza. Las variables cualitativas fueron informadas como proporciones con sus respectivos intervalos de confianza. A las variables cuantitativas se les hará una prueba de Kolgomorov-Smirnov para conocer su distribución. Las variables de distribución normal se informarán con medias con su respectiva desviación estándar y las variables de distribución no normal se informarán con medianas con medida de dispersión rangos intercuartiles.

Para objetivo 1 se hicieron estas descripciones y se agruparán en una tabla que sintetice la información.

Para el objetivo 2 se evaluaron las la variable porcentaje de flujo sanguíneo y porcentaje de reclutamiento capilar se evaluarán con una aproximación según su comportamiento normal o no normal con el grupo con y sin infusión de milrinona. Se aplicará una t-student o una prueba de U de Mann Whitney según su distribución.

Para el objetivo 3 se explorará la relación entre recibir o no milrinona y activación endotelial medida con angiopoietina-2. En el análisis bivariado se hará una t-student de varianzas iguales o una prueba de U de Mann Whtiney – Wilcoxon en caso de distribución no normal de la variable cuantitativa.

Para el objetivo 4 se evaluo la degradación del glicocálix con la variable PBR. Se dicotomizo mayor o menor a 2.0 micras en el grupo con y sin infusión de milrinona y se calcularan OR crudos para conocer el riesgo de degradación del glicocálix en cada grupo.

Posteriormente se realizo un análisis multivariado controlando factores de confusión (edad, escala PIM-2, choque, score vasoactivo) Se consideraron las variables desenlace como cualitativa dicotómica para realizar el análisis multivariado. En el caso de la variable flujo y reclutamiento capilar se consideró alterado mayor al 20%. En el caso de la variable angiopoietina -2 se consideró alterado mayor a 1.6 mcgr/dl según describe el fabricante. En el caso de la variable PBR se considerará alterado mayor a 2.0 micras. Una vez se consideran estas variables desenlaces dicotómicas, se realizo el análisis multivariado. Se realizo una Regresión Logística binaria y seleccionando las variables por plausibilidad biológica o que cumplan los criterios de Hosmer-Lemershaw. Se busco un modelo explicativo de los hallazgos encontrados validando el modelo con la prueba de Omnibus y evaluando el área bajo la curva.

5.5 Alcances y límites de la investigación

Esta investigación al ser de carácter observacional, buscamos generar hipótesis, explorar los cambios que pueden ocurrir con la microcirculación y el uso de infusiones de milrinona en niños con sepsis. Con nuestros hallazgos, buscamos construir hipótesis que permitan más adelante desarrollar ensayos clínicos que permitan evaluar la eficacia y seguridad del uso de

milrinona en sepsis considerando como variables desenlaces los cambios en la microcirculación que este medicamento puede llegar a producir.

7. Aspectos éticos

1. Equipo de investigación

Jaime Fernández-Sarmiento. MD PhD. Pediatra Intensivista, director de la Unidad de cuidado intensivo pediátrico de la LaCardio. Jefe Postgrado Cuidado Intensivo Universidad de la Sabana. Vicepresidente Sociedad Latinoamericana de Cuidados Intensivos Pediátricos (SLACIP).

Carlos Mauricio Sarta Mantilla. MP. Pediatra. Médico pediatra de unidad de cuidados intensivo de LaCardio. Residente de Cuidado intensivo pediátrico Universidad del Rosario.

Hernando Mulett Hoyos. MD. Intensivista Pediatra, Unidad de Cuidado Intensivo Pediátrico LaCardio. Jefe Postgrado Cuidado Intensivo Universidad del Rosario.

Lorena Acevedo. MD. Intensivista Pediatra, Unidad de Cuidado Intensivo Pediátrico de LaCardio, Docente Universidad del Rosario.

2. Categoría de la investigación

En el presente estudio se respetan las normas existentes internacionales y nacionales que son: la Declaración de Helsinki, y la resolución 8430 de 1993 que es la norma Nacional.

De acuerdo a esta resolución y como se describe en el artículo 11, se considera nuestro estudio una **investigación SIN RIESGO porque** “ *se emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas o psicológicas de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: revisión de historia clínicas, entrevistas, cuestionarios, y otros en los que no se le identifique se se traten de aspectos sensitivos de su conducta...*”. Se valorara de forma analítica y retrospectiva el efecto de infusiones de milrinona sobre cambios en la microcirculación, el endotelio y su glicocálix por medio de la revisión de las historias clínicas.

3. Población sujeta de investigación

Niños de 1 mes-18 años que ingresan a la unidad de cuidado intensivo pediátrico de LaCardio, Bogotá, Colombia; Que cumplan con los criterios de inclusión.

4. Uso de datos personales

Se manejarán los datos personales de acuerdo a la normatividad en Colombia. Solo el investigador principal conocerá la historia clínica que estará registrada en la base de datos. Estos datos serán anónimos. Esta base de datos será guardada en el computador del investigador por dos años y tiene clave de acceso que solo conocen dos investigadores principales (MS, JF). Todos estos principios de confidencialidad y privacidad, estarán regidos y aprobados por el comité de ética de LaCARDIO acorde a sus recomendaciones.

La base de datos de microcirculación de la UCIP incluye el documento de identificación de los pacientes, sin embargo, para el análisis de esta, el documento será codificado con un número único de paciente para el análisis y uso de la información de la misma, se asignará un código a cada paciente que solo será conocido por el investigador principal. Los investigadores que tendrán acceso a la base de datos son MS y JF para el respectivo análisis y a los códigos en caso de ser necesaria la búsqueda de información adicional, nadie ajeno al estudio tendrá acceso a la base de datos ni a los datos de identificación.

Para la publicación de los resultados, dado que no se describen casos en particular, sino una descripción general de los pacientes se considera que no existe riesgo de divulgación de datos sensibles, en ninguna circunstancia se presentan datos propios o que permitan identificación de los pacientes. En cumplimiento con lo dispuesto en la Constitución Política de Colombia, ley 1266 de 2008, ley estatutaria 1581 de 2012 y sus decretos reglamentarios y complementarios, garantiza de forma integral la protección de los derechos fundamentales de Habeas Data de todos los titulares de la información de carácter personal y de la cual es responsable o encargada de su tratamiento. Así mismo, y de acuerdo con la Sentencia C748 de 2011 de la Corte Constitucional, este derecho comprende otras facultades como las de autorizar el tratamiento, incluir nuevos datos o excluirlas o suprimirlos de una base de datos o archivo. Por lo cual los investigadores no obtendrán, ni harán públicos los datos personales (información, correo electrónico y celular de información contenida en la historia clínica).

Los datos serán manejados de forma privada en bases de datos donde NO hay información sobre el nombre o documento de identificación. El derecho fundamental al HABEAS DATA, debe garantizar a los ciudadanos el poder de decisión y control que les asiste sobre la información, uso y destino de sus datos personales.

5. *Riesgos y Beneficios*

Esta investigación como lo contempla la resolución 8430 de 1993 es una investigación sin riesgo en vista que es un estudio observacional, donde no se realiza ninguna intervención y es de carácter retrospectivo, tomando la información de las historias clínicas y de la base de datos de microcirculación que se tiene en la unidad de cuidados intensivos pediátricos de LaCardio.

Los beneficios de los participantes en esta investigación, es conocer el impacto del uso de medicamentos como la milrinona sobre la microcirculación. Esto no ha sido escrito en seres humanos sino en modelos animales (Referencia estudio en animales)

6. Consentimiento o asentimiento informados

A pesar de que los sujetos de investigación son niños, no se toman datos que permitan identificar al paciente (es información clínica y epidemiológica general), no se realizarán intervenciones sobre los participantes y las acciones no perjudicarán a los integrantes. Por lo cual en esta fase **no se considera necesario obtener consentimiento informado**, solo autorización del comité de ética institucional y el comité de investigaciones de LaCardio.

Respecto al asentimiento informado, no se requiere en lo contemplado en el protocolo. Debido a que el estudio emplea técnicas descriptivas y métodos de investigación retrospectivos no se considera que se requiere asentimiento.

7. Conflicto de interés

Los investigadores manifiestan no tener conflictos de intereses: no tienen lazos financieros con las compañías farmacéuticas ni con empresas de monitoria

relacionadas con la atención de los pacientes con adenovirus; no reciben ningún estímulo económico por la realización de este trabajo.

8. Administración del proyecto

8.1 Presupuesto

RUBROS	FUENTE DE FINANCIACIÓN	TOTAL
Planteamiento del problema Accesoría Tutor Temático. Recurso Humano, Transporte	\$ 100.000,00	\$ 100.000,00
Pregunta de investigación Accesoría Tutor Temático. Recurso Humano, Transporte	\$ 100.000,00	\$ 100.000,00
Selección del grupo de trabajo, Reunion Tutores. Recurso Humano, Transporte.	\$ 100.000,00	\$ 100.000,00
Búsqueda de la literatura, Busqueda Internet, apoyo red de bibliotecas, mensajería, Recurso Humano, uso de computadores Impresión, Gasto de servicios publicos: Luz, Agua Telefono.	\$ 100.000,00	\$ 100.000,00

Elaboración de protocolo Fotocopias, uso de computador, transportes para asesorías, impresiones (Tinta, Hojas y desgaste Equipo), Comestibles, Esferos, servicio de luz agua. Recurso Humano.	\$ 2'000.000	\$ 2'000.000
Análisis de base de datos: Transportes, Servicios de luz , Agua , tel fono, Uso Computador, Comestibles.	\$ 5'000.000.00	\$ 5.000.000.00
Redacción de documento Recurso Humano, Impresión Empaste	\$2'000.000.00	\$2'000.000.00
Evaluación del documento final: Recurso Humano	\$ 1000.000.00	2'000.000.00
Publicación de tesis	\$5.000.000.00	\$5.000.000.00
TOTAL	\$ 14'500.000.00	\$ 14'500.000,00

Favpr revisar

8.2 Cronograma ACTUALIZAROLO

Actividades	1	2	3	4	5
Realización Protocolo de Investigación	Octubre 2022				

Sometimiento del protocolo al comité técnico científico y de ética		Abril 2023			
Piloto de formatos de recolección de información					
Recolección de información	Septiembre y octubre 2022				
Tabulación de los datos			Abril 2023		
Análisis de los datos			Abril 2023		
Redacción de informe final				Abril y mayo 2023	
Entrega de primer borrador de artículo				Abril de 2023	
Entrega Artículo final					Junio 2023

9. RESULTADOS

De los 1123 pacientes admitidos durante el periodo del estudio a UCIP, 140 tenían sepsis o choque séptico y cumplían los criterios de selección (Table 1). La mediana de edad fue 2 años (IQR 0.58-12.1). Los participantes tuvieron una distribución por sexo (48.6%; 68/140 Mujeres). Del total de pacientes incluidos el 58% (81/140) recibieron infusión de milrinona. El mayor foco de ingreso a UCIP fue respiratorio seguido de gastrointestinal. Asimismo, 42.3% (83/140) los pacientes con sepsis y choque séptico no tenían diferencia en la escala de disfunción orgánica múltiple (PELOD-2) ($p=0.13$) al ingreso a PICU.

Table 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes al ingreso a UCIP de la fundación cardioinfantil-IC entre febrero de 2021 y enero 2022.

Característica	Total n=140	Con Milrinona n= 81	Sin Milrinona n= 59	Valor de P
Edad, Años (IQR)	2.0 (0.58-12.1)	1.1 (0.5-8.1)	6 (0.75-14)	0.01
Peso, kg (IQR)	11 (6.72-30.1)	9.1 (5.9-19.1)	18.4 (7.7-46.1)	<0.01
Mujeres sex (%)	68 (48.6)	43 (53.1)	25 (42.4)	0.21
Días in PICU	11 (6.1 -19.1)	16 (8-29)	8 (5-13)	<0.01
Foco infeccioso (%)				0.09
Respiratorio	43 (30.7)	27 (33.3)	16 (27.1)	
Tracto Gastrointestinal	38 (27.1)	25 (30.9)	13 (22.1)	
Genitourinario	1 (0,7)	0 (0)	1 (1.7)	
Sistema nervioso central	9 (6.4)	2 (2,5)	7 (11.9)	
Otros	49 (35.1)	27 (33.3)	22 (37.3)	
Clasificación de sepsis (%)				0.01
Sepsis	57 (40.7)	25 (31)	32 (53.4)	
Choque Septico	83 (59.3)	56 (66.7)	27 (46.6)	
PIM-2 (IQR)	17.24 (7.93-30.92)	20.24 (8.03-33.14)	12.21 (7.10-24.17)	0.01
PELOD-2 score (IQR)	7 (3-10)	8 (5-10)	7 (2-9)	0.12
Lactato mmol/L (IQR)	1.21 (0.82-1.78)	1.30 (0.9-1.9)	1.2 (0.7-1.6)	0.03
Glucosa mg/dL (IQR)	109.4 (91.8-138.8)	114.3- (90.9-143.5)	107 (92.1-132.8)	0.54
Ferritina mg/dL (IQR)	409.6 (173.9 – 1678.8)	557.7 (222.4-2459.1)	248.1 (119.1-585.3)	<0.01
PCR mg/dL (IQR)	5.1 (2.1 – 9.9)	5.1 (2.6-12.8)	4.4 (1.6-8.8)	0.20

D-dimero mg/L (IQR)	3.17 (1.17-5.84)	3.21 (1.21-9.24)	2.61 (1.21-3.71)	0.27
Procalcitonina g/dL (IQR)	1.43 (0.41 – 5.21)	2.1 (0.54-6.1)	1.13 (0.33-3.14)	0.05
Creatinina mg/dL (IQR)	0.41 (0.39-0.61)	0.41 (0.31-0.61)	0.51 (0.41-0.61)	0.23
Vasoactive score (IQR)	12.9 (4.5-29.7)	17 (6.1-39.5)	5.1 (1.1-18.1)	<0.01
Syndecan (IQR)	116.8 (78.4- 197.2)	134.2 (102.4-205.3)	104.2 (63.1-129.1)	0.08
Angiopeptina 2 (IQR)	11.6 (7.1-23.9)	9.1 (7.1-11.6)	22.7 (10.5-24.7)	0.01
Ventilacion mecánica (%)	119 (85.1)	78 (65.5)	41 (34.5)	<0.01
Mortalidad (%)	14 (10.1)	13 (16.5)	1(1.7)	<0.01

IQR: rango intercuartilo.

Cambios en la microcirculación asociados a la infusión de milrinona

La densidad capilar (DC4-6) responsable de llevar nutrientes a los tejidos en el grupo que recibió milrinona al ingreso era de 22.5 mm/mm² (RIQ 15.4-43.8) y de 36.8 mm/mm² (RIQ 20.3-51.7) en el grupo sin milrinona (p=0.17). A las 24 horas se observaba que estos capilares pequeños (DC 4-6) se mantenía reclutados en el grupo con milrinona en un valor similar al ingreso (25.1 mm/mm² ;RIQ 14.1-38.7). Sin embargo, observamos un descenso significativo del 28% del reclutamiento de estos vasos en el grupo que no recibía milrinona (26.35 mm/mm² ;RIQ 18.1-44.6; p<0.01). La DC4-6 en el grupo que recibió milrinona era más alta en niños menores de dos años (50% 23/46; 25% 8/32; ORa 0.33; CI 95% 0.12-0.89; p=0.026) comparada con niños mayores (tabla 2). La densidad de meta-arteriolas (vasos sanguíneos de 10-25 micras) a las 24 horas de recibir milrinona era similar frente al grupo que no recibía este medicamento (127.4 [116.5-189.2] mm/mm² vs 185.9 mm/mm² [149.5-203.8] ; p=0.72) sin diferencias entre los mayores y menores de dos años (p=0.45)

Con respecto al volumen de sangre que llega en el capilar, se observó que el grupo que recibió milrinona tenía a las 24 horas un aumento del 12% del volumen de sangre funcional o relativo (CBV-Rel) frente al ingreso a UCIP (1.29 vs 1.45). En el grupo sin milrinona se observó un descenso del CBV-Rel (1.56 vs 1.36) p=0.32 sin significancia estadística. De la misma manera, la capacidad de reclutamiento capilar adicional (CBV-RC) se mantuvo comparativamente desde el ingreso y a las 6 horas en el grupo que recibió milrinona (68,9% vs 65.9%;p=0.45)) mientras que se observó un descenso importante en el grupo que no recibió milrinona (80% vs 57.6%) p<0.05.

Otro componente importante de la microcirculación es el glicocálix endotelial. En los niños menores de dos años que recibieron milrinona, luego de 24 horas de su administración, se observaba menos frecuentemente alteración en el PBR independientemente de la severidad de la enfermedad y score vasoactivo (66% 30/47 vs 84% 21/25; aOR 0.34 CI 95% 0.11-0.99; $p=0.04$). No logramos demostrar que esta diferencia persistiera en los niños mayores de dos años (65.6% 21/32 vs 70.6% 24/34; $p=0.66$) En los pacientes con mayor grado de inflamación (hiperferritinemia y PCR elevada) se observó menor riesgo de degradación del glicocálix cuando recibían milrinona (ORa 0.41; CI 95% 0.18-0.93; $p=0.03$). Tabla 3

Cuando se evaluó la relación entre el flujo sanguíneo y la recuperación del glicocálix (MVHS™ score) en las primeras 24 horas de ingreso existía un menor valor en el grupo que recibía milrinona (2.5 puntos RIQ 1.5-6.1) con respecto al grupo sin milrinona (4.0 puntos RIQ: 2.6-5.7; $p=0.02$). En el segundo día, este valor empeoró un 28% en el grupo que no recibía milrinona (2.9 puntos RIQ: 1.83-5.25) mientras que en el grupo con milrinona se mantuvo en valores similares al ingreso (2.66 puntos RIQ: 1.96-4.91) $p=0.03$.

Cambios en la microcirculación y variables clínicas

No se logró demostrar asociación entre la presencia de un VIS elevado y alteraciones en la densidad de capilares de 4-6 micras ($p=0.56$), ni capilares de 7-25 micras ($p=0.86$) en ninguno de los grupos. Tampoco entre el VIS elevado y cambios en el flujo vascular funcional ($p=0.59$) ni en la capacidad de reclutamiento capilar ($p=0.08$). Se observó asociación SIGNIFICATIVA entre un VIS alto y niveles más elevados de PBR en ambos grupos ($p=0.02$) . Igualmente encontramos asociación moderada entre la presión de pulso y la densidad de capilares de 7-25 micras (ρ 0.55; $p=0.03$) pero no con la densidad de capilares de 4-6 micras (ρ 0.02; $p=0.82$) en niños con y sin infusión de milrinona. (Figura 1).

Tabla 2. Valores de microcirculación estratificado por grupo etáreo.

	Menor 2 años		Valor de P	Mayor 2 años		Valor de P
	Con Milrinone	Sin Milrinone		Con Milrinone	Sin Milrinone	
MVHS	3,5	2,96	p=0.02	2,43	2,89	p=0.67
RIQ	(1.96-5.15)	(1.47-5.70)		(1.95-3.3)	(2.08-3.9)	
DC 4-6 micras	23.9	22.7	p=0.02	25	25.4	p=0.81
(RIQ)	(18-41)	(16.2-41.6)		(14-31)	(16.8-32.7)	
CBV-RC	76.5	74.2	p=0.52	65.9	77.1	p=0.79
(RIQ)	(61.1-86.2)	(28.2-82.7)		(48-83.6)	(51.35-86.9)	

MVHS: score de salud microvascular. DC 4-6: densidad capilar de 4-6 micras. CBV-RC: capacidad de reclutamiento residual. RIQ: rango intercuartilo.

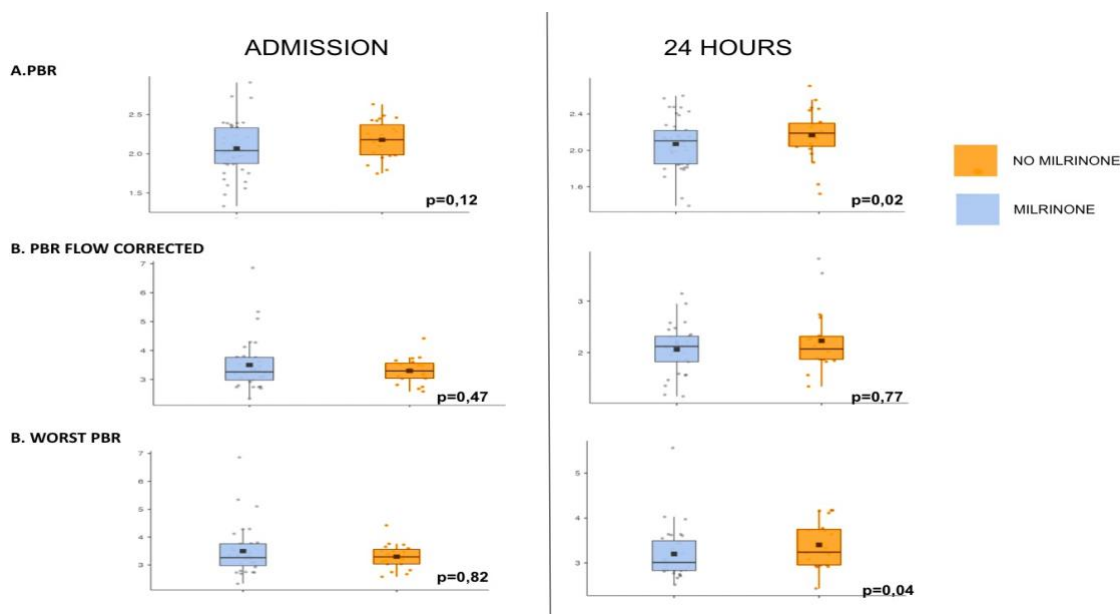


Figura 1: Comportamiento del Glicocáliz evaluado con videomicroscopio sublingual con el valor de PBR al ingreso y a las 24 horas con infusión de milrinona y sin infusión de milrinona.

El llenado capilar prolongado al ingreso se correlacionó con PBR alterado (ρ 0.20; $p=0.01$) y la elevación del lactato con niveles más altos de PBR (0.24; $p=0.01$), CBV-RC (-0.20;

p=0.04) y con el MVHS™ score (-0.24;p = 0.01) en ambos grupos. Encontramos que los pacientes que no recibían milrinona se observaba más falla orgánica asociada a disfunción de la microcirculación con mayor degradación del glicocálix endotelial (nivel más alto de PBR (p<0.01) y menor cantidad de capilares funcionales reclutados (CBV_rel; p<0.01) (figura 2). Se observó asociación entre niveles más elevados de PBR y mayor mortalidad en el grupo con y sin milrinona (2.99 micras ± 0.39 vs 3.40 micras ± 0.69; p=0.04). (Figura 2).

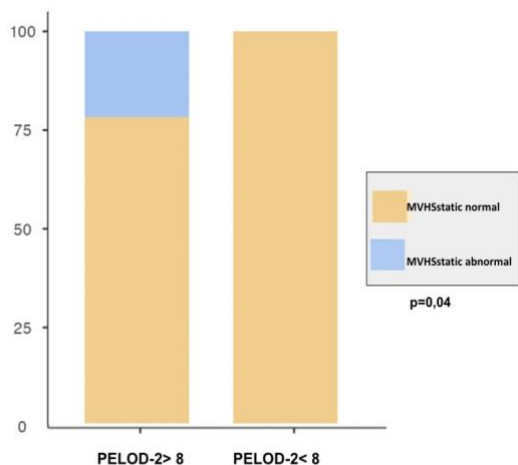


Figura 2. Índice microvascular en pacientes con disfunción multisistémico y sin disfunción multisistémica según el puntaje del índice PELOD-2

Tabla 3. Análisis multivariado para la asociación entre infusión de milrinone y cambios en la microcirculación en niños con choque séptico.

Variable	ORa	IC 95%	Valor de P*
PBR	0.34	0.11-0.99	p=0.04
Riesgo de Ferritina elevada	0.41	0.18-9.93	p=0.03
Menor de dos años	0.33	0.12-0.89	p=0.02

*Ajustado a edad, PIM-2, vasoactivos. PBR: region límite perfundida (del inglés perfused boundary región).

10. DISCUSIÓN

En esta investigación encontramos que los niños con sepsis tienen cambios significativos en la microcirculación asociados al uso de infusiones de milrinona. Particularmente observamos que luego de 24 horas de recibir este medicamento la densidad capilar de vasos sanguíneos de 4-6 micras se mantenía estable mientras que en el grupo que no la recibió existía disminución importante. Adicionalmente, se observó mayor homogeneidad y mantenimiento del flujo sanguíneo del capilar y menor degradación del glicocálix endotelial en el grupo que recibió milrinona. Estos hallazgos ocurrieron predominantemente en niños menores de dos años (como se observa en el análisis multivariado) y en aquellos pacientes con mayor respuesta inflamatoria. Los cambios en la microcirculación asociados al uso de milrinona también se relacionaron con cambios en el llenado capilar, el lactato sérico y a cambios en el score de disfunción orgánica.

Tradicionalmente, las metas hemodinámicas en sepsis, tanto en adultos como en niños, se han centrado en objetivos de la macrocirculación (presión arterial, frecuencia cardíaca, gasto cardíaco) (1-3). Sin embargo, estas metas no reflejan de manera perfecta la optimización de la perfusión tisular y en niños la hipotensión suele ser un signo tardío de choque (1). El objetivo final desde el punto de vista hemodinámico en estos pacientes críticos es mejorar la entrega de oxígeno y metabolitos a los tejidos, que sólo se logra optimizando la microcirculación (20,21). De hecho, algunos estudios han reportado que hasta el 45% de los adultos que mueren por choque cardiogénico tienen un índice cardíaco considerado normal (22). Estos hallazgos sugieren que la optimización de sólo la macrocirculación no es suficiente en pacientes críticos.

El compromiso de la microcirculación en sepsis ha sido ampliamente descrito en adultos (21,23,24). En nuestra investigación encontramos que la densidad de capilares de 4-6 micras era baja pero mantenible a las 24 horas, al igual que el volumen de flujo sanguíneo, cuando los pacientes recibían infusiones de milrinona. De Backer et encontró que la principal característica del flujo microvascular en pacientes con sepsis es una disminución en la densidad de vasos sanguíneos capilares junto con alta heterogeneidad (presencia de capilares con buena y mala perfusión) (25). Este mismo autor encontró que bajas dosis de dobutamina

en pacientes con sepsis, recuperan el flujo microvascular independientemente de sus efectos sistémicos. Sin embargo, estos hallazgos no han sido observados en todos los pacientes con sepsis (26). Nosotros encontramos hallazgos similares con el uso de milrinona. Los cambios en la densidad vascular no eran constantes en todos los grupos etáreos y se observaban más marcados en niños menores de dos años. Posiblemente, el reclutamiento capilar en niños con sepsis entendido como un fenómeno continuo y no dicotómico (apertura o cierre de acuerdo a la teoría clásica de Krogh's) sea más dependiente de la densidad capilar (flujo difusivo) que del flujo convectivo. Esto explicaría, al menos en parte, nuestros hallazgos (16,27). Los niños más pequeños podrían tener características fisiológicas de perfusión tisular diferentes a los mayores. Posiblemente la respuesta autonómica del tono vascular, reología de los glóbulos rojos, la presión de conducción capilar (diferencia de presión capilar y venular) entre otros factores, puedan explicar estos fenómenos de mayor estabilización de la densidad de capilares en sepsis (28). Necesitamos más estudios que puedan profundizar y probar estas hipótesis en niños con sepsis.

Adicionalmente encontramos que los pacientes menores de dos años que recibían milrinona tenían menos frecuentemente degradación del glicocálix endotelial. Nuestro grupo, recientemente encontró que los cristaloides no balanceados pueden asociarse a mayor degradación del glicocálix en pacientes con sepsis, posiblemente su pH ácido y gran contenido de cloro (15). El sostener la densidad capilar y no empeorar el flujo vascular mientras se reciben infusiones de milrinona, podría explicar que una de sus consecuencias sea menor degradación del glicocálix y modificación de la respuesta inflamatoria. De hecho, encontramos que los pacientes que recibían milrinona tenían menos degradación del glicocálix a pesar de tener ferritina y PCR altas. La elevación de la PBR en nuestra investigación se asoció a mayor mortalidad al igual que lo observado en estudios de adultos con sepsis (29). Los efectos del milrinona sobre la respuesta inflamatoria y sus desenlaces se han encontrado también en modelos animales. Se ha observado que a dosis terapéuticas, este medicamento puede interferir con la cascada inflamatoria, la agregación plaquetaria y así contribuir a la restauración del flujo microvascular (9,30-32).

En sepsis, particularmente en fases avanzadas, puede existir un estado en el cual se han normalizado variables de macrocirculación (presión arterial, gasto cardíaco) pero persisten

alteraciones de la microcirculación. Este fenómeno ha sido llamado “incoherencia hemodinámica” y se ha asociado a peores desenlaces (33). El compromiso de la microcirculación en los pacientes que no recibían milrinona y estaban normotensos encontramos que se asociaba a prolongación del llenado capilar, aumento del lactato y a disfunción de más órganos. Consideramos que estas alteraciones pueden explicarse por pérdida de esta coherencia entre la macro y la microcirculación. De hecho, no encontramos correlación entre los cambios de la microcirculación y altos VIS o presión arterial normal. Este fenómeno de incoherencia hemodinámica debe ser más estudiado en niños. Permitiría entender mejor algunos fenómenos en sepsis como la falta de respuesta a reanimación hídrica en fases avanzadas de la enfermedad y en algunos escenarios sin disponibilidad de UCIP mayor asociación con peores desenlaces (2,34,35).

Consideramos que nuestra investigación tiene varias limitaciones. En primer lugar, es la experiencia de un único centro y un estudio observacional que encontró asociaciones que no necesariamente son causales. No obstante, buscamos controlar las variables confusoras y nuestros hallazgos de las alteraciones de la microcirculación son consistentes con estudios realizados en animales y en adultos con sepsis. Adicionalmente, nuestra evaluación se limitó a las primeras 24 horas de ingreso a PICU de los niños con sepsis. No sabemos si los cambios en la microcirculación relacionados con el uso de milrinona persistan luego de este tiempo. Finalmente, nuestro objetivo era exploratorio y conocer un poco más de los cambios en la microcirculación, el endotelio y su glicocáliz en niños con sepsis. No buscamos establecer si el milrinona modifica específicamente la respuesta inflamatoria y puede tener otros efectos en sepsis. Se necesita otro tipo de diseño y medición de citoquinas, así como otros biomarcadores para poder estudiar más a fondo estos efectos.

11. CONCLUSIONES

En esta investigación de niños con sepsis, encontramos que el uso de infusiones de milrinona se asoció a cambios en la microcirculación.

Se encontró persistencia de reclutamiento de capilares de 4-6 micras luego de 24 horas de su administración, mantenimiento del flujo sanguíneo capilar y menor degradación del glicocálix particularmente en niños menores de dos años. Los cambios en la microcirculación asociados al uso de milrinona se relacionaron con cambios en el llenado capilar, lactato sérico y menor disfunción orgánica. Se necesitan estudios experimentales que nos permitan profundizar en el conocimiento de los cambios en la microcirculación de niños con sepsis y su relación con el uso de fluidos y medicamentos.

12. REFERENCIAS

1. Weiss SL, Balamuth F, Hensley J, Fitzgerald JC, Bush J, Nadkarni VM, Thomas NJ, Hall M, Muszynski J. The Epidemiology of Hospital Death Following Pediatric Severe Sepsis: When, Why, and How Children With Sepsis Die. *Pediatr Crit Care Med*. 2017 Sep;18(9):823-830.
2. Weiss SL, Peters MJ, Agus MSD, Alhazzani W, Choong K, Flori HR, Inwald DP, Nadel S, Nunnally ME, Schlapbach LJ, Tasker RC, Tissieres P, Kissoon N; Children's Surviving Sepsis Campaign International Guidelines for the Management of Septic Shock and Sepsis-Associated Organ Dysfunction in Children Taskforce. Perspective of the Surviving Sepsis Campaign on the Management of Pediatric Sepsis in the Era of Coronavirus Disease 2019. *Pediatr Crit Care Med*. 2020 Nov;21(11):e1031-e1037.
3. Fleischmann-Struzek C, Goldfarb DM, Schlattmann P, Schlapbach LJ, Reinhart K, Kissoon N. The global burden of paediatric and neonatal sepsis: a systematic review. *Lancet Respir Med*. 2018 Mar;6(3):223-230.
4. De Backer D, Ricottilli F, Ospina-Tascón GA. Septic shock: a microcirculation disease. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2021 Apr 1;34(2):85-91.
5. Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit Care*. 2019 Jan 17;23(1):16.
6. Tarbell JM, Cancel LM. The glycocalyx and its significance in human medicine. *J Intern Med*. 2016 Jul;280(1):97-113.
7. Yajnik V, Maarouf R. Sepsis and the microcirculation: the impact on outcomes. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2022 Apr 1;35(2):230-235.
8. Iba T, Levy JH. Derangement of the endothelial glycocalyx in sepsis. *J Thromb Haemost*. 2019 Feb;17(2):283-294
9. Walley KR. Sepsis-induced myocardial dysfunction. *Curr Opin Crit Care*. 2018 Aug;24(4):292-299
10. Gelinas JP, Russell JA. Vasopressors During Sepsis: Selection and Targets. *Clin Chest Med*. 2016 Jun;37(2):251-62

11. Liet JM, Jacqueline C, Orsonneau JL, et al. The effects of milrinone on hemodynamics in an experimental septic shock model. *Pediatr Crit Care Med* 2005;6:195-9
12. Jain S. Sepsis: An Update on Current Practices in Diagnosis and Management. *Am J Med Sci*. 2018 Sep;356(3):277-286. doi: 10.1016/j.amjms.2018.06.012.
13. Weiss SL, Fitzgerald JC, Pappachan J, Wheeler D, Jaramillo-Bustamante JC, Salloo A, Singhi SC, Erickson S, Roy JA, Bush JL, Nadkarni VM, Thomas NJ; Sepsis Prevalence, Outcomes, and Therapies (SPROUT) Study Investigators and Pediatric Acute Lung Injury and Sepsis Investigators (PALISI) Network. Global epidemiology of pediatric severe sepsis: the sepsis prevalence, outcomes, and therapies study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 May 15;191(10):1147-57.
14. 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
15. Fernández-Sarmiento J, Carcillo JA, Salinas CM, Galvis EF, López PA, Jagua-Gualdrón A. Effect of a Sepsis Educational Intervention on Hospital Stay. *Pediatr Crit Care Med*. 2018 Jun;19(6):e321-e328.
16. Colbert JF, Schmidt EP. Endothelial and Microcirculatory Function and Dysfunction in Sepsis. *Clin Chest Med*. 2016 Jun;37(2):263-75. doi: 10.1016/j.ccm.2016.01.009.
17. Chanani NK, Cowan DB, Takeuchi K, et al. Differential effects of amrinone and milrinone upon myocardial inflammatory signaling. *Circulation* 2002;106:I284-9
18. Lin JC, Spinella PC, Fitzgerald JC, Tucci M, Bush JL, Nadkarni VM, Thomas NJ, Weiss SL; Sepsis Prevalence, Outcomes, and Therapy Study Investigators. New or Progressive Multiple Organ Dysfunction Syndrome in Pediatric Severe Sepsis: A Sepsis Phenotype With Higher Morbidity and Mortality. *Pediatr Crit Care Med*. 2017 Jan;18(1):8-16.
19. Beurskens DM, Bol ME, Delhaas T, van de Poll MC, Reutelingsperger CP, Nicolaes GA, Sels JE. Decreased endothelial glycocalyx thickness is an early predictor of mortality in sepsis. *Anaesth Intensive Care*. 2020 May;48(3):221-228.
20. Rohlenova K, Veys K, Miranda-Santos I, De Bock K, Carmeliet P. Endothelial Cell Metabolism in Health and Disease. *Trends Cell Biol*. 2018 Mar;28(3):224-236.

21. Shi Y, Vanhoutte PM. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *J Diabetes*. 2017 May;9(5):434-449.
22. Büchele GL, Ospina-Tascon GA, De Backer D. How microcirculation data have changed my clinical practice. *Curr Opin Crit Care*. 2007 Jun;13(3):324-31.
23. Jourde-Chiche N, Fakhouri F, Dou L, Bellien J, Burtey S, Frimat M, Jarrot PA, Kaplanski G, Le Quintrec M, Pernin V, Rigotherier C, Sallée M, Fremeaux-Bacchi V, Guerrot D, Roumenina LT. Endothelium structure and function in kidney health and disease. *Nat Rev Nephrol*. 2019 Feb;15(2):87-108.
24. Bazzoni G, Dejana E. Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev*. 2004 Jul;84(3):869-901.
25. Petzelbauer P, Halama T, Gröger M. Endothelial adherens junctions. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2000 Dec;5(1):10-3.
26. Foote CA, Soares RN, Ramirez-Perez FI, Ghiarone T, Aroor A, Manrique-Acevedo C, Padilla J, Martinez-Lemus L. Endothelial Glycocalyx. *Compr Physiol*. 2022 Aug 23;12(4):3781-3811.
27. Luft JH. Fine structures of capillary and endocapillary layer as revealed by ruthenium red. *Fed Proc*.
28. Alphonsus CS, Rodseth RN. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier. *Anaesthesia*. 2014 Jul;69(7):777-84.
29. Jacob M, Chappell D. Reappraising Starling: the physiology of the microcirculation. *Curr Opin Crit Care*. 2013 Aug;19(4):282-9.
30. Pillinger NL, Kam P. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anaesth Intensive Care*. 2017 May;45(3):295-307.
31. Vink H., Duling B.R. Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circ Res* 1996; 79: 581–589
32. Nieuwdorp M., Meuwese M.C., Mooij H.L., Ince C., Broekhuizen L.N., Kastelein J.J. et al. Measuring endothelial glycocalyx dimensions in humans: a potential novel tool to monitor vascular vulnerability. *J Appl Physiol* 2008; 104: 845–852.

33. Reitsma S., Slaaf D.W., Vink H., van Zandvoort M.A., oude Egbrink M.G. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization. *Pflugers Arch* 2007; 454: 345–359
34. Weinbaum S., Tarbell J.M., Damiano E.R. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer. *Annu Rev Biomed Eng* 2007; 9: 121–167.
35. Curry F.E., Adamson R.H. Endothelial glycocalyx: permeability barrier and mechanosensor. *Ann Biomed Eng* 2012; 40: 828–839.
36. van Haaren PM, VanBavel E, Vink H, Spaan JA. Localization of the permeability barrier to solutes in isolated arteries by confocal microscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Dec;285(6):H2848-56.
37. Han S, Lee S-J, Kim KE, Lee HS, Oh N, Park I, Ko E, Oh SJ, Lee Y-S, Kim D, Lee S, Lee DH, Lee K-H, Chae SY, Lee J-H, Kim S-J, Kim H-C, Kim S, Kim SH, Kim C, Nakaoka Y, He Y, Augustin HG, Hu J, Song PH, Kim Y-I, Kim P, Kim I, Koh GY. Amelioration of sepsis by TIE2 activation-induced vascular protection. *Sci Transl Med*. 2016;8:335ra55
38. King J, Hamil T, Creighton J, Wu S, Bhat P, McDonald F, Stevens T. Structural and functional characteristics of lung macro- and microvascular endothelial cell phenotypes. *Microvasc Res*. 2004 Mar;67(2):139-51.
39. Mochizuki S, Takayama A, Sasaki T, Yada T, Endo K, Horike H, Kashihara N, Ogasawara Y, Kajiya F. Clear correlation of tetrahydrobiopterin with nitric oxide bioavailability in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Blood Purif*. 2010;30(2):96-7.
40. Lupu F, Kinasewitz G, Dormer K. The role of endothelial shear stress on haemodynamics, inflammation, coagulation and glycocalyx during sepsis. *J Cell Mol Med*. 2020 Nov;24(21):12258-12271.
41. Levick JR, Michel CC. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res*. 2010 Jul 15;87(2):198-210.
42. Kudo S, Morigaki R, Saito J, Ikeda M, Oka K, Tanishita K. Shear-stress effect on mitochondrial membrane potential and albumin uptake in cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Apr 13;270(2):616-21.

43. Hellenthal KEM, Brabenec L, Wagner NM. Regulation and Dysregulation of Endothelial Permeability during Systemic Inflammation. *Cells*. 2022 Jun 15;11(12):1935.
44. Suzuki A, Tomita H, Okada H. Form follows function: The endothelial glycocalyx. *Transl Res*. 2022 Sep;247:158-167. doi: 10.1016/j.trsl.2022.03.014.
45. Zhao F, Wang R, Huang Y, Li L, Zhong L, Hu Y, Han Z, Fan J, Liu P, Zheng Y, Luo Y. Elevated plasma syndecan-1 as glycocalyx injury marker predicts unfavorable outcomes after rt-PA intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke. *Front Pharmacol*. 2022 Jul 15;13:949290
46. Richter RP, Payne GA, Ambalavanan N, Gaggar A, Richter JR. The endothelial glycocalyx in critical illness: A pediatric perspective. *Matrix Biol Plus*. 2022 Mar 9;14:100106.
47. Goligorsky MS, Sun D. Glycocalyx in Endotoxemia and Sepsis. *Am J Pathol*. 2020 Apr;190(4):791-798.
48. Annecke T, Fischer J, Hartmann H, Tschoep J, Rehm M, Conzen P, Sommerhoff CP, Becker BF. Shedding of the coronary endothelial glycocalyx: effects of hypoxia/reoxygenation vs ischaemia/reperfusion. *Br J Anaesth*. 2011 Nov;107(5):679-86.
49. Suzuki K, Okada H, Sumi K, Tomita H, Kobayashi R, Ishihara T, Mizuno Y, Yamaji F, Kamidani R, Miura T, Yasuda R, Kitagawa Y, Fukuta T, Suzuki K, Miyake T, Kanda N, Doi T, Yoshida T, Yoshida S, Tetsuka N, Ogura S, Suzuki A. Syndecan-1 as a severity biomarker for patients with trauma. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Sep 27;9:985955.
50. Woods A, Couchman JR. Syndecan-4 and focal adhesion function. *Curr Opin Cell Biol*. 2001 Oct;13(5):578-83.
51. Couchman JR, Woods A. Syndecan-4 and integrins: combinatorial signaling in cell adhesion. *J Cell Sci*. 1999 Oct;112 (Pt 20):3415-20.
52. Li JP, Kusche-Gullberg M. Heparan Sulfate: Biosynthesis, Structure, and Function. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2016;325:215-73.
53. Nelson A, Berkestedt I, Bodelsson M. Circulating glycosaminoglycan species in septic shock. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2014 Jan;58(1):36-43.

54. Fernández-Sarmiento J, Schlapbach LJ, Acevedo L, Santana CR, Acosta Y, Diana A, Monsalve M, Carcillo JA. Endothelial Damage in Sepsis: The Importance of Systems Biology. *Front Pediatr*. 2022 Mar 9;10:828968.
55. Eickhoff MK, Winther SA, Hansen TW, Diaz LJ, Persson F, Rossing P, Frimodt-Møller M. Assessment of the sublingual microcirculation with the GlycoCheck system: Reproducibility and examination conditions. *PLoS One*. 2020 Dec 23;15(12):e0243737.
56. Dubin A, Kanoore Edul VS, Caminos Eguillor JF, Ferrara G. Monitoring Microcirculation: Utility and Barriers - A Point-of-View Review. *Vasc Health Risk Manag*. 2020 Dec 31;16:577-589.
57. Fernández-Sarmiento J, Salazar-Peláez LM, Acevedo L, Niño-Serna LF, Flórez S, Alarcón-Forero L, Mulett H, Gómez L, Villar JC. Endothelial and Glycocalyx Biomarkers in Children With Sepsis After One Bolus of Unbalanced or Balanced Crystalloids. *Pediatr Crit Care Med*. 2023 Mar 1;24(3):213-221.
58. Rovas A, Seidel LM, Vink H, Pohlkötter T, Pavenstädt H, Ertmer C, Hessler M, Kümpers P. Association of sublingual microcirculation parameters and endothelial glycocalyx dimensions in resuscitated sepsis. *Crit Care*. 2019 Jul 24;23(1):260.
59. Scholz A, Plate KH, Reiss Y. Angiopoietin-2: a multifaceted cytokine that functions in both angiogenesis and inflammation. *Ann N Y Acad Sci*. 2015 Jul;1347:45-51.
60. Fiedler U, Reiss Y, Scharpfenecker M, Grunow V, Koidl S, Thurston G, Gale NW, Witzernath M, Rosseau S, Suttorp N, Sobke A, Herrmann M, Preissner KT, Vajkoczy P, Augustin HG. Angiopoietin-2 sensitizes endothelial cells to TNF-alpha and has a crucial role in the induction of inflammation. *Nat Med*. 2006 Feb;12(2):235-9.
61. Crowley LC, Marfell BJ, Scott AP, Waterhouse NJ. Quantitation of Apoptosis and Necrosis by Annexin V Binding, Propidium Iodide Uptake, and Flow Cytometry. *Cold Spring Harb Protoc*. 2016 Nov 1;2016(11).
62. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992 Jun;101(6):1644-55

63. 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 Jan;6(1):2-8.
64. Fernández-Sarmiento J, De Souza DC, Martinez A, Nieto V, López-Herce J, Soares Lanziotti V, Arias López MDP, De Carvalho WB, Oliveira CF, Jaramillo-Bustamante JC, Díaz F, Yock-Corrales A, Ruvinsky S, Munaico M, Pavlicich V, Iramain R, Márquez MP, González G, Yunge M, Tonial C, Cruces P, Palacio G, Grela C, Slöcker-Barrio M, Campos-Miño S, González-Dambrauskas S, Sánchez-Pinto NL, Celiny García P, Jabornisky R. 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
65. Weiss SL, Peters MJ, Alhazzani W, Agus MSD, Flori HR, Inwald DP, Nadel S, Schlapbach LJ, Tasker RC, Argent AC, Brierley J, Carcillo J, Carrol ED, Carroll CL, Cheifetz IM, Choong K, Cies JJ, Cruz AT, De Luca D, Deep A, Faust SN, De Oliveira CF, Hall MW, Ishimine P, Javouhey E, Joosten KFM, Joshi P, Karam O, Kneyber MCJ, Lemson J, MacLaren G, Mehta NM, Møller MH, Newth CJL, Nguyen TC, Nishisaki A, Nunnally ME, Parker MM, Paul RM, Randolph AG, Ranjit S, Romer LH, Scott HF, Tume LN, Verger JT, Williams EA, Wolf J, Wong HR, Zimmerman JJ, Kissoon N, Tissieres P. Surviving Sepsis Campaign International Guidelines for the Management of Septic Shock and Sepsis-Associated Organ Dysfunction in Children. *Pediatr Crit Care Med*. 2020 Feb;21(2):e52-e106.
66. Hilarius KWE, Skippen PW, Kissoon N. Early Recognition and Emergency Treatment of Sepsis and Septic Shock in Children. *Pediatr Emerg Care*. 2020 Feb;36(2):101-106
67. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ*. 2016 May 23;353:i1585.
68. Carcillo JA, Halstead ES, Hall MW, Nguyen TC, Reeder R, Aneja R, Shakoory B, Simon D; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Collaborative Pediatric Critical Care Research Network Investigators. Three Hypothetical Inflammation Pathobiology Phenotypes and Pediatric Sepsis-

- Induced Multiple Organ Failure Outcome. *Pediatr Crit Care Med*. 2017 Jun;18(6):513-523.
69. Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and Septic Shock - Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making. *Med Clin North Am*. 2020 Jul;104(4):573-585.
70. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol*. 2017 Jul;17(7):407-420.
71. Kudo D, Goto T, Uchimido R, Hayakawa M, Yamakawa K, Abe T, Shiraishi A, Kushimoto S. Coagulation phenotypes in sepsis and effects of recombinant human thrombomodulin: an analysis of three multicentre observational studies. *Crit Care*. 2021 Mar 19;25(1):114
72. Diehl JL, Borgel D. Sepsis and coagulation. *Curr Opin Crit Care*. 2005 Oct;11(5):454-60.
73. Carcillo JA, Davis AL, Zaritsky A. Role of early fluid resuscitation in pediatric septic shock. *JAMA*. 1991 Sep 4;266(9):1242-5. PMID: 1870250.
74. Maitland K, Kiguli S, Opoka RO, Engoru C, Olupot-Olupot P, Akech SO, Nyeko R, Mtove G, Reyburn H, Lang T, Brent B, Evans JA, Tibenderana JK, Crawley J, Russell EC, Levin M, Babiker AG, Gibb DM; FEAST Trial Group. Mortality after fluid bolus in African children with severe infection. *N Engl J Med*. 2011 Jun 30;364(26):2483-95
75. Maitland K, Gibb DM, Babiker A; FEAST trial team. Secondary re-analysis of the FEAST trial. *Lancet Respir Med*. 2019 Oct;7(10):e29.
76. Martin GS, Bassett P. Crystalloids vs. colloids for fluid resuscitation in the Intensive Care Unit: A systematic review and meta-analysis. *J Crit Care*. 2019 Apr;50:144-154.
77. Sankar J, Ismail J, Sankar MJ, C P S, Meena RS. 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 Med*. 2017 Oct;18(10):e435-e445.
78. Asfar P, Meziani F, Hamel JF, Grelon F, Megarbane B, Anguel N, Mira JP, Dequin PF, Gergaud S, Weiss N, Legay F, Le Tulzo Y, Conrad M, Robert R, Gonzalez F, Guitton C, Tamion F, Tonnelier JM, Guezennec P, Van Der Linden T, Vieillard-

- Baron A, Mariotte E, Pradel G, Lesieur O, Ricard JD, Hervé F, du Cheyron D, Guerin C, Mercat A, Teboul JL, Radermacher P; SEPSISPAM Investigators. High versus low blood-pressure target in patients with septic shock. *N Engl J Med*. 2014 Apr 24;370(17):1583-93.
79. De Backer D, Donadello K, Cortes DO. Monitoring the microcirculation. *J Clin Monit Comput*. 2012 Oct;26(5):361-6.
80. Kara A, Akin S, Ince C. Monitoring microcirculation in critical illness. *Curr Opin Crit Care*. 2016 Oct;22(5):444-52.
81. Koster G, Bekema HJ, Wetterslev J, Gluud C, Keus F, van der Horst IC. Milrinone for cardiac dysfunction in critically ill adult patients: a systematic review of randomised clinical trials with meta-analysis and trial sequential analysis. *Intensive Care Med*. 2016 Sep;42(9):1322-35
82. Kakihana Y, Ito T, Nakahara M, Yamaguchi K, Yasuda T. Sepsis-induced myocardial dysfunction: pathophysiology and management. *J Intensive Care*. 2016 Mar 23;4:22.
83. Tomicic V; Zouein L; Iribarren G; Arenas A; Rol de la milrinona en el tratamiento del shock séptico; *Rev Chil Med Intensiv* 2021; 36(2): 61-71.
84. Rich N, West N, McMaster P, Alexander J. Milrinone in meningococcal sepsis. *Pediatr Crit Care Med*. 2003 Jul;4(3):394-5.
85. Meyer S, Gortner L, Brown K, Abdul-Khaliq H. The role of milrinone in children with cardiovascular compromise: review of the literature. *Wien Med Wochenschr*. 2011 Apr;161(7-8):184-91.
86. Ospina-Tascón GA, Calderón-Tapia LE. Inodilators in septic shock: should these be used? *Ann Transl Med*. 2020 Jun;8(12):796.
87. de Miranda ML, Pereira SJ, Santos AO, Villela NR, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E. Milrinone attenuates arteriolar vasoconstriction and capillary perfusion deficits on endotoxemic hamsters. *PLoS One*. 2015 Feb 3;10(2):e0117004