



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Análisis del comportamiento de los anticuerpos IgM antiendotoxina en el paciente crítico

Esther Villarreal Tello

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

LaFe
Hospital
Universitari
i Polítècnic

**ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LOS ANTICUERPOS IgM ANTIENDOTOXINA EN EL
PACIENTE CRÍTICO.**

Memoria de tesis doctoral presentada por Esther Villarreal Tello para optar al grado de
doctora por la Universitat de Barcelona.

Dirigida por Paula Ramírez Galleymore y Jordi Vila Estapé.

Programa de Doctorado de Medicina e Investigación Traslacional. Facultad de Medicina y
Ciencias de la Salud.

Universitat de Barcelona. Marzo del 2024.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a la Dra. Paula Ramírez por acompañarme y guiarme pacientemente durante todos estos años. Mi referente, tanto profesional como personal.

Al Dr. Vila, por aceptar generosamente la codirección de esta tesis.

Especial mención tanto a Ricardo Alonso como M^aDolores Gómez del servicio de Análisis clínicos y Microbiología del Hospital Universitario La Fe, sin su ayuda técnica la elaboración de este proyecto hubiera sido inviable.

A mis compañeros de la "UCI": Karla, Luis, Teresa y Adrián. Sin su ayuda este trabajo no habría llegado a concluirse. A Jesús Ruiz, por darle sentido a la compleja estadística.

A Mónica, mi "sensei", por aportarme punto de cordura en los momentos de locura a lo largo de estos años.

Agradecer a mis padres y hermana, por inculcarme valores que me han hecho ser mejor persona y por vuestro esfuerzo para que lograra cumplir mis sueños.

A mis pequeños, Paula y Alejandro. El motor de mi vida, que me devuelven las ganas de luchar y mejorar cada día.

Por último, a Pedro. Mi amor, gracias por permanecer a mi lado en los momentos más complicados y formar parte de los mejores. Sin tu impulso, paciencia infinita y apoyo diario, no habría llegado hasta aquí.

INDICE

Glosario	8-9
Artículos que componen la tesis	10
Resumen de la tesis	11- 15
I Introducción	18- 48
1. Shock séptico.....	19 - 25
2. Shock cardiogénico.....	26 - 28
3. Endotoxina o lipopolisacárido.....	29 - 31
4. Evaluación de la exposición a endotoxina.....	32 - 39
4.1. Determinación de la endotoxina.....	32 - 34
4.2. Determinación de la actividad endotoxina.....	34 - 36
4.3. Anticuerpos antiendotoxina.....	37 - 39
5. Traslocación bacteriana.....	40 - 43
6. Endotoxina en el paciente crítico.....	44 - 48
II Hipótesis	50
III Objetivos	52
IV Material y métodos, resultados	53 - 69
Primer artículo	54 - 60

Segundo artículo	61 - 69
V Discusión	71 - 82
VI Conclusiones	84
VII Bibliografía	86- 94

GLOSARIO

AcAE IgM: Anticuerpos antiendotoxina inmunoglobulina M.

AcAE IgG: Anticuerpos antiendotoxina inmunoglobulina M.

BGN: Bacterias Gram negativas LPS: Lipopolisacarido.

CHM II: Complejo de Histocompatibilidad tipo II.

PMAPs: Patrón molecular asociado a patógenos.

IL1: Interleucina 1.

IL6: Interleucina 6.

LAL: Limulus amebocyte lysate.

PCR: Proteína C reactiva.

PCT: Procalcitonina.

SC: Shock cardiogénico.

SS: Shock séptico.

UCI: Unidad de cuidados intensivos.

IAM: Infarto agudo de miocardio.

ICA: Insuficiencia cardiaca aguda.

ICC: Insuficiencia cardiaca crónica.

RVS: Resistencias vasculares sistémicas.

SIRS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

TESIS EN FORMATO MONOGRÁFICO (“CLÁSICA”).

Tesis en formato de monográfico con un artículo. La tesis consta de diez objetivos y dos artículos:

1.- Ramírez P, Villarreal E, Gordon M, Gómez MD, De Hevia L, Vacacela k, Gisbert T, Quinzá A, Ruiz J, Alonso R, Bonastre J, Vila J. Septic participation in Cardiogenic Shock: Exposure to bacterial endotoxin. Shock. 2017 May;47(5):588-592.

Journal Citation Reports (JCR) – Categoría Critical Care Medicine – I.F. 3.1 (Q3)

Scimago Journal Ranking (SJR) – Categoría Critical Care and Intensive Care Medicine (Q1)

2.- Villarreal E, Ramírez P, Gordón M, Vicent C, Gómez MD, De Hevia L, Vacacela K, Alonso R, Vila J. Anti-endotoxin antibodies consumption in cardiovascular collapse: Pathophysiological concerns. Med Intensiva. 2022 Nov; 46(11).

Journal Citation Reports (JCR) – Categoría Critical Care Medicine – I.F. 3.0 (Q3)

Scimago Journal Ranking (SJR) – Categoría Critical Care and Intensive Care Medicine (Q2)

RESUMEN

Título:

Análisis del comportamiento de los anticuerpos IgM antiendotoxina en el paciente crítico.

Introducción:

La endotoxina o lipopolisacárido (LPS) es el componente principal de la pared celular de las bacterias Gram negativas (BGN) y en gran medida es la responsable de la respuesta inflamatoria sistémica del paciente que sufre una infección por dichas bacterias.

La presencia de LPS se puede detectar mediante la clásica prueba del limulus amebocyte lysate (LAL), que adolece de un exceso de falsos negativos cuando se realiza en muestras sanguíneas; o mediante la determinación de la actividad de la endotoxina (EAA). Sin embargo, existe otro método validado para el estudio del LPS que consiste en la medición de los anticuerpos específicos producidos por nuestro sistema inmune. En el ser humano la exposición al LPS provoca la producción de anticuerpos antiendotoxina (AcAE). Dada la presencia de bacterias en el intestino humano y el constante contacto con sus toxinas, existe una tasa de AcAE circulante habitual en el sujeto sano.

La infección por BGN alterará el resultado de las pruebas que evalúan la exposición al LPS, en el caso de los AcAE se producirá un consumo inicial seguido de un aumento de su producción. No obstante, en ausencia de infección por BGN también se ha objetivado una exposición a LPS en el paciente crítico. Se considera en esta situación que existe una liberación secundaria de endotoxina de una fuente endógena, el tracto gastrointestinal.

La endotoxemia estaría producida por la disbiosis intestinal del paciente crítico y sobretodo por la alteración de la mucosa intestinal que pierde su función de barrera.

En el paciente crítico la barrera intestinal se ve alterada por diversas condiciones, apareciendo con frecuencia los fenómenos de traslocación bacteriana. En situación de fracaso hemodinámico, la mucosa del intestino sufre una isquemia cuya entidad y consecuencias no son bien conocidas.

Hipótesis:

El estudio de la exposición a la endotoxina en el paciente crítico permitiría profundizar en los mecanismos fisiopatológicos tanto del proceso infeccioso como de otras entidades tales como el shock cardiogénico. La cinética del consumo/producción de anticuerpos frente a la endotoxina en el shock séptico dependerá del tipo de microorganismo y de la gravedad de la infección. En los pacientes en shock cardiogénico la hipoperfusión intestinal dará lugar a una hipoperfusión de la mucosa y a una traslocación bacteriana en forma de endotoxemia que podría participar en la génesis de los fenómenos inflamatorios observados.

Objetivos:

Objetivos principales.

1. Analizar la participación de la endotoxina en el fracaso cardiovascular.
2. Analizar la cinética de los anticuerpos antiendotoxina en el shock cardiogénico.

3. Comparar la cinética de los anticuerpos antiendotoxina en el shock cardiogénico y shock séptico.

Objetivos secundarios.

1. Describir la respuesta inflamatoria mediante parámetros clínicos y analíticos (biomarcadores inflamatorios: PCR, PCT e IL6) en el paciente en shock cardiogénico.
2. Analizar la correlación entre el título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock cardiogénico.
3. Analizar la capacidad pronóstica del título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock cardiogénico.
4. Describir la respuesta inflamatoria mediante parámetros clínicos y analíticos (biomarcadores inflamatorios: PCR, PCT e IL6) en el paciente en shock séptico.
5. Analizar el título de Ac IgM antiLPS en relación con la etiología del shock séptico.
6. Analizar la correlación entre el título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock séptico.
 - Analizar la capacidad pronóstica del título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock séptico.

Métodos.

Tipo de estudio.

Estudio prospectivo observacional de cohortes, realizado en la unidad de cuidados intensivos (UCI) del Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia, España).

Criterios de inclusión y exclusión.

Se incluyeron de manera consecutiva pacientes con criterios de shock cardiogénico y séptico, no inmunodeprimidos y mayores de 18 años, que firmaran el consentimiento informado para participar en el estudio.

A los pacientes incluidos, se les realizó un seguimiento durante los tres primeros días. Se recogieron muestras sanguíneas para analizar marcadores inflamatorios: proteína C reactiva (PCR), procalcitonina (PCT) e interleuquina 6 (IL6), y anticuerpos IgM antiendotoxina.

El método para determinar la procalcitonina e IL6 fue por electroquimioluminiscencia (EQL) en Cobas 6000 (E-170), Roche Diagnostics. Respecto al método empleado para determinar la PCR se empleó el test turbidimétrico.

Los anticuerpos antiendotoxina IgM, se determinarán según la técnica de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), como previamente describió Barclay y Scott (7).

Se creó una base de datos en la que se recogieron todos los datos demográficos, antecedentes médicos, variables analíticas, microbiológicas y hemodinámicas. Se usó la escala APACHE II para valorar la gravedad. Se calculó mediana y rango intercuartílico (RI) para variables continuas, así como frecuencias relativas y absolutas para variables discretas. Para el análisis de las variables de estudio se empleó el test Ji cuadrado o test exacto de Fisher en el caso de variables categóricas y U de Mann-Whitney o test de Kruskal-Wallis en el caso de variables continuas. Todos los test se realizaron con un nivel de significación $p \leq 0.05$ y los intervalos de confianza con una confianza de $1-\alpha$.

La capacidad diagnóstica de los distintos biomarcadores fue evaluada mediante la construcción de una curva ROC y el análisis de la AUC.

Resultados.

Se incluyeron a 62 pacientes; 25 con SS y 37 con SC. La etiología fue identificada en 23 pacientes con SS (92%), los BGN estuvieron presentes en 13 casos (52%). Se sospechó e incluso se trató la infección en 30 pacientes con SC, pero en ningún caso se pudo confirmar la existencia de la misma.

El consumo de EndoCAb fue más intenso en los pacientes con SS, pero 22 pacientes con SC (59,5%) tuvieron unos valores por debajo del percentil 10. Los niveles de EndoCAb no fueron significativamente diferentes entre las infecciones por BGN y cocos grampositivos. La capacidad de EndoCab para diferenciar entre SC y SS resultó ser moderada (AUC 0,7892; IC del 95%, 0,6564-0,9218).

Conclusiones

En el paciente crítico con sepsis grave/shock séptico o con shock cardiogénico existe una exposición a la endotoxina detectable mediante la determinación del título de los AcAE. Aunque el tipo de patología y la etiología bacteriana pueden modificar el título de AcAE no es posible establecer puntos de corte que limiten estas entidades. Los resultados de esta tesis expresan la imposibilidad de compartimentalizar el fracaso hemodinámico en el paciente crítico y ponen de manifiesto la adición de mecanismos fisiopatológicos secundarios.

I. INTRODUCCIÓN

El paciente crítico es por definición un paciente extremadamente complejo en el que la enfermedad y el fallo orgánico han puesto en peligro la vida del enfermo. Requiere por tanto con frecuencia del uso de dispositivos artificiales para paliar la disfunción de los órganos, así como de múltiples tratamientos y pruebas diagnósticas. El insulto original que ocasiona el ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) es muy diverso y el intensivista está acostumbrado a que aparezcan lesiones o disfunciones secundarias, por ejemplo, un síndrome de distrés respiratorio en la pancreatitis aguda. No obstante, existen daños colaterales que resultan menos obvios o identificables pero que modifican la fisiopatología que mantiene el estado de enfermedad, y que incluso podrían ser subsidiarios de intervenciones terapéuticas.

Las toxinas bacterianas desempeñan un papel claramente identificado en la infección y la sepsis. No obstante, su relevancia fisiopatológica también podría activarse como reflejo de la disfunción de un sistema integrado en nuestro organismo, aunque quizás de una manera menos tangible que otros: el microbioma. Las bacterias y sus toxinas forman parte de nuestro organismo en los diversos microbiomas que nos acompañan, siendo el intestinal el más conocido y relevante. La alteración del microbioma intestinal y la disrupción de sus límites estructurales, la mucosa intestinal, puede dar lugar al paso hacia el interior de toxinas y bacterias, traslocación intestinal. La traslocación conllevará una segunda ola de reacción inmune-inflamatoria que modificará el estado del paciente y por tanto nuestra actuación.

Aunque esta línea argumental se mantiene desde hace tiempo son escasos los trabajos que han profundizado en su estudio y comprensión en el paciente crítico. En esta tesis

hemos incluido pacientes críticos con una esperada participación bacteriana, shock séptico, y pacientes en los que dicha participación no estaba prevista, shock cardiogénico. De este modo pretendemos analizar el comportamiento de la endotoxina como elemento común que potencialmente podría fusionar dos caminos fisiopatológicos inicialmente distintos.

1. Shock séptico

La sepsis es un síndrome inducido por una infección en el que la respuesta inflamatoria del huésped puede generar una disfunción orgánica e incluso poner en peligro la vida del paciente. El tiempo de evolución hasta el diagnóstico y un manejo apropiado juegan un papel determinante en el desenlace.

Es un importante problema de salud pública, que afecta a millones de personas a nivel mundial y que genera gran parte de los costes a nivel hospitalario. De hecho la incidencia reportada de sepsis en los últimos años se ha incrementado (1). Este incremento es debido a una suma de factores; por un lado, existe un envejecimiento de la población acompañado de la presencia de más comorbilidades y por otro, el mayor uso de procedimientos invasivos, el amplio uso de fármacos inmunosupresores y quimioterapia, y la resistencia bacteriana a la antibioterapia. A pesar de los avances en su manejo terapéutico y aunque se desconoce la verdadera incidencia, las estimaciones más conservadoras indican que la sepsis es una de las principales causas de morbimortalidad global. De hecho, la mortalidad intrahospitalaria puede llegar a superar el 40% (1).

La sepsis es la principal causa de ingreso en la unidad de cuidados intensivos y la complicación más habitual en el paciente crítico (2). Por tanto, los recursos dedicados a esta entidad suponen un importante porcentaje del gasto total asistencial.

Además, cada vez hay más evidencia en la literatura de que los pacientes que sobreviven a la sepsis suelen tener discapacidades físicas, psicológicas y cognitivas a largo plazo con importantes implicaciones sociales y de atención sanitaria (3).

La sepsis se produce por la combinación de dos factores, por una parte los propios del patógeno, y por otra los factores del huésped, tales como edad y la presencia de comorbilidades. Precisamente la diferencia entre sepsis e infección, es que en la primera se produce una respuesta inflamatoria sistémica de tal intensidad que puede producir la disfunción de órganos e incluso la muerte del paciente. Dado que la disfunción orgánica inducida por la sepsis puede pasar desapercibida si es de baja expresividad o intensidad, la actitud del especialista frente a la infección debe ser de búsqueda proactiva de la respuesta inflamatoria y la posible afectación orgánica (3).

Cuando la respuesta inflamatoria a la sepsis se acompaña de disfunción cardiovascular hablamos de shock séptico. La importancia de la disfunción cardiovascular no radica tanto en las cifras de tensión arterial como en la alteración que se produce a nivel del metabolismo celular sometido a un déficit de oxígeno. Identificaremos al paciente en shock séptico cuando tras el diagnóstico de la infección detectemos una hipotensión persistente que requiere vasopresores para mantener una PAM ≥ 65 mm Hg y un nivel de lactato sérico >2 mmol/L (18 mg/dL) a pesar de una reanimación con volumen adecuado.

Tanto la sepsis como el shock séptico son emergencias médicas en las que el tiempo hasta el diagnóstico y correcto tratamiento es crucial. Del mismo modo que se ha establecido en muchos hospitales un *código infarto* para atender a los pacientes con infarto agudo de miocardio o el *código ictus* para atender a los pacientes con accidente cerebrovascular isquémico, la sepsis requiere del denominado también *código sepsis*. La activación de dicho código y el consecuente manejo del paciente, rápido y adecuado, condicionará el pronóstico del paciente.

Aunque la etiología vírica y fúngica ha aumentado en los últimos años, la infección bacteriana de adquisición en la comunidad o en el hospital sigue siendo la etiología más frecuente de la sepsis y el shock séptico. La patogenicidad de la bacteria se basa con frecuencia en la producción y liberación de toxinas. De hecho, la inoculación directa de dichas toxinas producirá el mismo cuadro clínico que una infección, incluyendo la sepsis y el shock séptico.

Existen alrededor de 220 toxinas bacterianas conocidas, y el 40% son responsables de enfermedades que dañan la membrana de las células eucariotas (4).

Se pueden distinguir dos tipos de toxinas.

- **Exotoxinas:** Son las más frecuentes. Son proteínas solubles y termolábiles, producidas en el interior de la bacteria como parte de su crecimiento y metabolismo. Se segregan en el propio medio o se liberan después de la lisis de la bacteria que la produce. Son dañinas a bajas concentraciones y pueden actuar múltiples ocasiones ya que se pueden desplazar desde el foco infeccioso hacia otros tejidos (4,5).

Las exotoxinas a su vez se dividen en tres categorías:

1.- Toxinas superantígenos.

En condiciones normales, las células presentadoras de antígenos (CPA) procesan en su interior el material antigénico y lo expresan en su superficie unido al complejo mayor de histocompatibilidad tipo II (CMH-II). Estos antígenos son reconocidos por los linfocitos T4 a través de un receptor específico. Para la mayoría de infecciones, todo este procesamiento es un factor limitante en la velocidad de activación de los linfocitos T4 y los mecanismos de retroalimentación que regulan todo esto, aseguran que sólo se active un 1% del total de linfocitos T4.

Sin embargo, existen antígenos que son capaces de evitar ese procesamiento intracelular. Estos antígenos, se denominan “superantígenos”. Se unen directamente al CHM-II y al receptor de los linfocitos T4, por lo tanto, se genera una activación más directa e inespecífica de los linfocitos T4, que puede llegar a reclutar hasta el 40% de los linfocitos T circulantes. (6)

Los linfocitos T4 activados generan una liberación exagerada de citoquinas que provoca una respuesta inflamatoria generalizada y una rápida progresión del shock hacia una disfunción multiorgánica. Ejemplos de exotoxinas de tipo I incluyen la toxina del síndrome de shock tóxico (TSS), liberada por *Staphylococcus aureus*, y la exotoxina pirógena liberada por *Streptococcus pyogenes*, que causa el síndrome de shock tóxico estreptocócico. (5,7).

2.- Toxinas citolíticas.

Provocan la degradación integral de la membrana citoplasmática provocando la lisis celular. Existen diferentes tipos en función de las células que afecten:

- Las leucocidinas son exotoxinas que tienen la capacidad de alterar la membrana de la célula huésped, en concreto de los macrófagos. La mayoría se producen por estafilococos y estreptococos.
- Las hemolisinas, alteran la membrana de los glóbulos rojos de la sangre por medio de canales proteicos.

Ambas son capaces de causar la lisis no sólo de los eritrocitos y los leucocitos sino también de otras células del organismo (5). La destrucción celular provoca una respuesta inflamatoria tanto de manera directa como indirecta a través de la liberación de patrones moleculares asociados a patógenos (PMAPs), que tienen la capacidad de interactuar directamente con receptores de los linfocitos T4 generando una liberación de citoquinas inflamatorias. (6)

Son ejemplos relevantes, la toxina alfa de *Staphylococcus aureus*, la aerolisina de *Aeromonas hydrophila* y la toxina ClyA de *Escherichia coli* (7).

3.- Toxinas A-B.

Están formadas por las subunidades A y B. La B es el elemento que se suele unir a un receptor celular del huésped y así permite que A atraviese la membrana de la célula diana logrando dañarla.

La subunidad A son enzimas activas que inactivan las vías de señalización intracelular lo que interfiere con diversas funciones de la célula huésped. La subunidad B se une al receptor de membrana de la célula. Una vez unidas, las exotoxinas se endocitan y la

subunidad A accede directamente al citosol. Algunas bacterias están equipadas con un sistema de secreción de tipo III, que utiliza una estructura en forma de aguja para introducir exotoxinas directamente en el citoplasma. (6)

Existen distintos patógenos productores de exotoxinas A-B inhibitoras de la síntesis proteica; por ejemplo, la toxina diftérica que es producida por *Corynebacterium diphtheriae*, toxina pertusis por *Bordetella pertussis*, la toxina colera por *Vibrio cholera*, la toxina Shiga like por *Shigella dysenteriae* o *Escherichia coli* enterohemorrágico. (5) (Figura 1).

Estas exotoxinas se emplean para producir toxoides, aunque son seguros siguen siendo antigénicos y, son la base de varias vacunas (6).

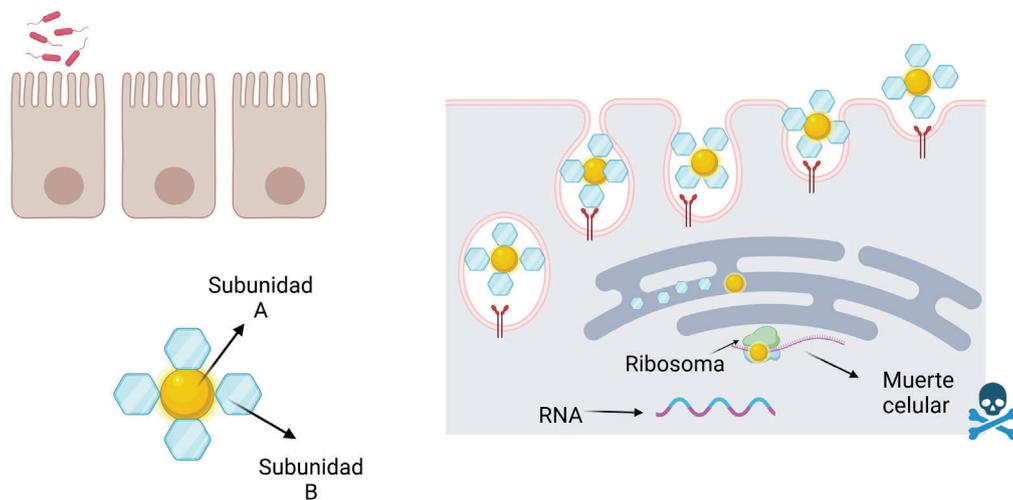


Figura 1. Exotoxina AB. Mecanismo de acción. Imagen propia Biorender.

- **Endotoxinas.**

El lipopolisacárido (LPS) o históricamente llamado endotoxina, se encuentra presente en la membrana externa de la pared celular de las bacterias Gram negativas. Cuando el microorganismo muere y se lisa, la toxina se libera.

Una vez liberado, el LPS se une a la proteína de unión al LPS (LBP), esta LBP actúa como una transferasa y se consideran un modulador potente del reconocimiento del LPS. El complejo LPS-LBP generará una activación tanto de la inmunidad innata como adquirida. Tiene la capacidad de unirse al CD14 presente en la membrana de macrófagos, monocitos y neutrófilos y también puede unirse al receptor específico de los linfocitos T CD 4+, activando el factor nuclear intracelular (NF) $\kappa\beta$ que regula la transcripción genética de citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α y la interleucina 1. Por lo tanto, una concentración elevada de LPS desencadena una tormenta de citoquinas que puede provocar un shock séptico y/o disfunción multiorgánica (6,8).

Así mismo, son capaces de activar las proteínas de coagulación sanguínea, formando pequeños coágulos que pueden obstruir los capilares y, en consecuencia, provocar una disminución de la irrigación que conduce a la muerte de los tejidos (8). Su implicación en la patología del paciente crítico es el objetivo de esta tesis y por tanto será estudiado en profundidad más adelante.

2. Shock cardiogénico.

La insuficiencia cardiaca aguda (ICA) es una disfunción miocárdica y circulatoria (tanto sistémica como pulmonar) que conduce a anomalías hemodinámicas agudas y graves. Los factores que la desencadenan pueden ser la isquemia, la hipertensión, las arritmias, otro tipo de comorbilidad no cardiaca o el uso de fármacos cardiotóxicos. El grado más extremo de esta patología es el shock cardiogénico (9).

El SC es una condición clínica de perfusión tisular inadecuada debido a la incapacidad del corazón de bombear una cantidad adecuada de sangre. Esta reducción de la perfusión tisular da como resultado una disminución del suministro de oxígeno y nutrientes a los tejidos y si se prolonga puede desencadenar un fracaso multiorgánico (10,11).

La causa más común es el infarto agudo de miocardio (IAM). De hecho, el SC ocurre entre 5-10% de los pacientes que han presentado un IAM. (12)

En los pacientes en SC las manifestaciones clínicas más comunes son las derivadas de la hipoperfusión tisular. Se pueden manifestarse como una disminución o alteración de consciencia, frialdad acra con disminución de los pulsos periféricos, oliguria (diuresis inferior a los 30 ml/h), lactato sérico elevado (superior a 2 mmol/L) y puede ir acompañada de una hipotensión que generalmente se define como una presión arterial sistólica inferior a 90 mmHg o una presión arterial media inferior al 25 % de la sistólica, lo que indicaría un gasto cardiaco reducido (13).

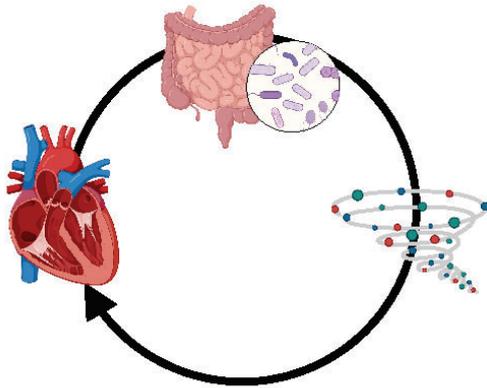
Además, debido a la disfunción sistólica y diastólica ventricular se observan signos secundarios al aumento de las presiones de llenado intracardiaco, como el edema pulmonar, ortopnea o una presión venosa yugular elevada (13).

La mortalidad a los 30 días es del 40% y al año cercana al 50%. Su manejo sigue siendo complejo a pesar de los avances terapéuticos (13).

Cada vez tenemos mayor evidencia en la literatura de que en las enfermedades cardiovasculares, como la insuficiencia cardiaca crónica, hay una interacción entre el intestino y el corazón. En concreto el microbioma intestinal y la endotoxemia, desencadenan una inflamación sistémica cuyas complicaciones empobrecen el pronóstico del paciente (14).

La superficie del intestino tiene dos papeles fundamentales, por un lado, se encarga de absorber nutrientes, y por otro actúa como barrera, impidiendo el paso al torrente sanguíneo de sustancias nocivas y bacterias o productos bacterianos propios de la luz gastrointestinal, incluido el LPS. Durante el shock cardiogénico, la reducción del gasto cardíaco da como resultado un suministro inadecuado de oxígeno a los tejidos y órganos, sacrificando especialmente la irrigación del tracto digestivo. Este déficit de irrigación producirá una isquemia de la mucosa permitiendo la endotoxemia, que generará una inflamación sistémica. A su vez la activación de la cascada inflamatoria provocará una vasodilatación patológica, liberando óxido nítrico sintasa y peroxinitrito, que tienen efectos inotrópicos cardiotóxicos. Se produce así, una retroalimentación negativa que tiene como consecuencias una caída del gasto cardíaco, mayor traslocación y por tanto mayor inflamación sistémica. La cifra sérica de interleucinas y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), mediadores inflamatorios sistémicos causantes de la vaso-

dilatación, se ha relacionado con la mortalidad de los pacientes en SC (11,15).



*Figura 2. Interacción entre el microbioma intestinal
y las enfermedades cardiovasculares.*

En el paciente en SC aparecen con frecuencia signos y síntomas propios de la respuesta inflamatoria y que son similares a los que se observan cuando existe una complicación infecciosa. La fiebre, leucocitosis, disminución de las resistencias vasculares sistémicas e incluso aumento de los niveles séricos de biomarcadores infecciosos son hallazgos comunes en los pacientes con SC (16). La mencionada afectación intestinal y la translocación bacteriana, principalmente en forma de endotoxemia, ha sido señalada por algunos autores como la posible explicación de este *sepsis-like* síndrome (17).

3. Lipopolisacárido:

El lipopolisacárido (LPS), es una macromolécula polar considerada como el componente principal de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas (BGN). El LPS juega un papel primordial en la fisiología, la permeabilidad y la fluidez de la membrana externa de la pared celular bacteriana. Estas características le convierten en un elemento vital para las BGN (18).

El LPS está compuesto por tres estructuras conectadas que otorgan a la molécula su propiedad polar y anfipática (Figura 3):

- La estructura básica consta de un componente de lípido A o endotoxina; una estructura central de oligosacárido y una cadena lateral de polisacárido repetitiva que otorga la especificidad de serotipo y las propiedades polares. La estructura del lípido A consta de diglucosamina β 1-6 difosforilada unida a seis ácidos grasos de cadena media unidos a un éster colocados de manera asimétrica. El lípido A tiene una estructura muy conservada pero no idéntica entre los distintos géneros de BGN. Es la que confiere a toda la estructura del LPS la propiedad endotóxica (19).
- El núcleo central del LPS consta de dos partes. Una interna, está compuesta de una región de heptosa y residuos de ácido 3-desoxi-D-mano octulosónico con moléculas de hexosa. Y otra región externa contiene una secuencia de moléculas de hexosa mucho más variable, que se une al polisacárido externo o antígeno O. El núcleo interno, está muy conservado dentro de un género o familia de bacterias, de hecho, los oligosacáridos centrales de bacterias lejanamente relacionadas

comparten características estructurales, lo cual es un reflejo de la importancia del núcleo interno en la integridad de la membrana externa (19).

- El componente de polisacárido externo del LPS (antígeno O) se encuentra en la superficie de la pared celular de la bacteria y posee un papel inmunodominante (11). La estructura del polisacárido O define la especificidad serológica del antígeno O en un organismo, pero el número de antígeno O únicos dentro de una especie varía considerablemente. Por ejemplo, *Escherichia coli*, produce aproximadamente 170 serotipos O. (19)

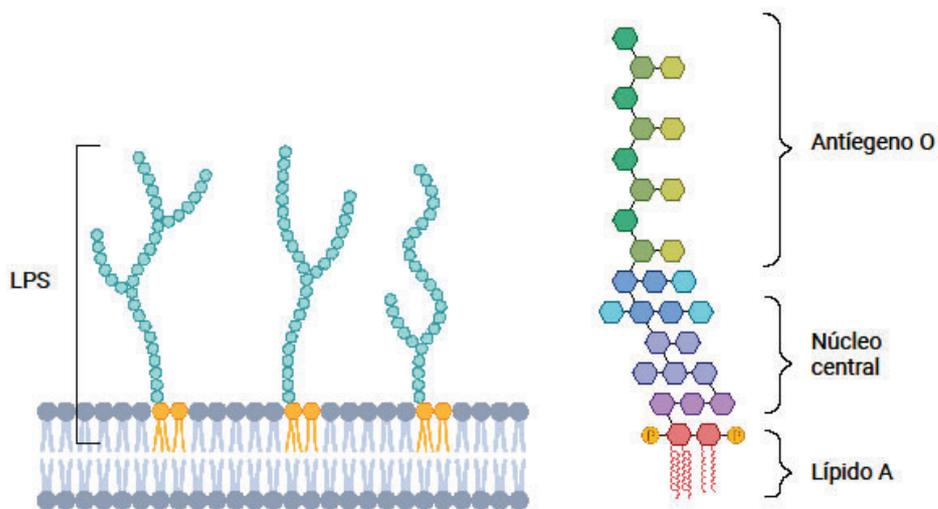


Figura 3. Estructura del Lipopolisacárido. (Imagen propia Biorender).

En el paciente infectado, el LPS es responsable de la activación del sistema inmune innato (monocitos, granulocitos y células natural killer). Esto es debido a que el

lípidos A, es detectado mediante un receptor del sistema inmunológico innato presente en macrófagos y células endoteliales. Este receptor, es el receptor toll 4 (TLR4) y es una proteína que atraviesa la membrana y es capaz de activar la biosíntesis de citoquinas proinflamatorias como la IL1 o TNF α y la producción de moléculas coestimuladoras necesarias para desarrollar una respuesta inmune adaptativa (19). Por otro lado, en las células endoteliales, el lípido A estimula la producción de factor tisular. Todos estos eventos son deseables y actúan de manera sinérgica en una infección local. Sin embargo, en exceso y a nivel sistémico, activan diversos factores de coagulación que dañan los vasos sanguíneos precipitando una coagulación intravascular diseminada y un fracaso multiorgánico.

La mayoría de los genes expresados inicialmente por el huésped en la exposición a una BGN completa son reproducibles con la administración de una única molécula de LPS. Esto indica que el LPS es la molécula dominante reconocida por las células efectoras inmunitarias (20).

Autores a finales del siglo pasado y principios del actual consideraban a la endotoxina como un marcador específico de la infección por BGN (21-23). No obstante, resultados más recientes han mostrado que la exposición a endotoxina es posible en ausencia de diagnóstico de infección demostrada por BGN.

4. Evaluación de la exposición a endotoxina:

4.1.- Determinación de endotoxina.

Tradicionalmente, la presencia de LPS se ha puesto de manifiesto mediante el ensayo de lisis de amebocitos de *Limulus* (LAL).

En 1956, Bang descubrió que la endotoxina de un *Vibrio* marino era patógena para el cangrejo de herradura (*Limulus polyphemus*) ya que provocaba en el animal una coagulación intravascular diseminada. Estos autores posteriormente, demostraron que esto era el resultado de una reacción entre la endotoxina y la hemolinfa del cangrejo (células sanguíneas circulantes o amebocitos). La molécula de endotoxina causaba la conversión enzimática de un factor de coagulación de los amebocitos.

Una vez que se reconoció el potencial de esta prueba, en años posteriores se decidió tratar de emplearlo como una herramienta diagnóstica. Se desarrollaron varios métodos de análisis a partir de este principio (24):

- *Método cromogénico cinético*: Se mezcla una muestra con la hemolinfa del cangrejo. En presencia de endotoxina, la muestra sanguínea del cangrejo reacciona y se genera la liberación de un cromóforo a partir de un péptido cromogénico (paranitroanilina). Se mide la densidad óptica a través de un espectrofotómetro. El resultado es directamente proporcional a la cantidad de enzima de coagulación activa y, por tanto, indirecta a la cantidad de endotoxina. La reacción depende del tiempo y temperatura.

- *Gen Clot*: En un tubo se incuba la misma cantidad de la endotoxina y sangre del cangrejo. Tras un periodo de incubación se invierte el tubo. Si hay endotoxina, la mezcla se coagulará y el gel permanecerá sólido en el fondo del tubo. Se puede obtener un resultado semicuantitativo mediante la dilución en serie de muestras y estándares.

- *Cinética turbidimétrica*. Se mezcla endotoxina y sangre del cangrejo. En presencia de endotoxina, aumenta la turbidez de la mezcla. Un lector de microplacas registra el tiempo de inicio necesario para alcanzar una absorbancia predeterminada de la mezcla. El contenido de endotoxina se calcula con la referencia de un estándar de endotoxina predefinido.

La lisis de los amebocitos es una prueba muy sensible en presencia de endotoxina, sin embargo, existen ciertos aspectos por los que este reactivo presenta dificultades (25).

-La cuantificación de la actividad de la enzima LAL es complicada por la forma sigmoide de la curva de la reacción.

- La técnica requiere de condiciones adecuadas (pH, temperatura, iones).

- En fluidos biológicos, la coagulación puede ser inducida por otros productos microbianos, como componentes de la pared celular fúngica (el β -(1,3)-D-glucano), y los inhibidores circulantes en el huésped pueden bloquear la respuesta de coagulación a la endotoxina.

Este último aspecto hace que esta determinación, si bien presenta buenos resultados cuando se utiliza en muestras poco complejas como son las aguas de diálisis, es poco fiable en muestras de plasma. El ensayo es un método fiable para la detección de infecciones por BGN en fluidos corporales distintos de la sangre (25). Es una prueba altamente sensible y específica in vitro, pero adolece de un exceso de falsos negativos cuando se realiza in vivo (24,25).

En la literatura existen más de un centenar de estudios publicados en las últimas cuatro décadas, sobre el significado clínico de la detección de endotoxina en la sangre como una prueba diagnóstica y pronóstica. A pesar del número de investigaciones publicadas su papel diagnóstico en la clínica, continúa siendo incierto.

4.2.- Determinación de actividad de endotoxina (EA).

Es un inmunoensayo en el que se emplea un anticuerpo monoclonal IgM murino frente al lípido A de *Escherichia coli*, este en general tiene una reacción cruzada para los LPS de los BGN.

Este ensayo de quimioluminiscencia (CL) utiliza la producción de radicales libres por parte de los leucocitos polimorfonucleares inducidos por la activación de los receptores CR₁ y CR₃, mediante complejos LPS-anticuerpo, opsonizado por moléculas de complemento y activado por zymosan (hidrato de carbono insoluble). Este producto de estrés oxidativo o radical libre, producen la oxidación del luminol y la posterior emisión de luz. Se mide la liberación de luz que se genera a través de un

quimioluminómetro sensible a la luz en el rango de 450 nm, a lo largo del tiempo (27,28). Figura 4.

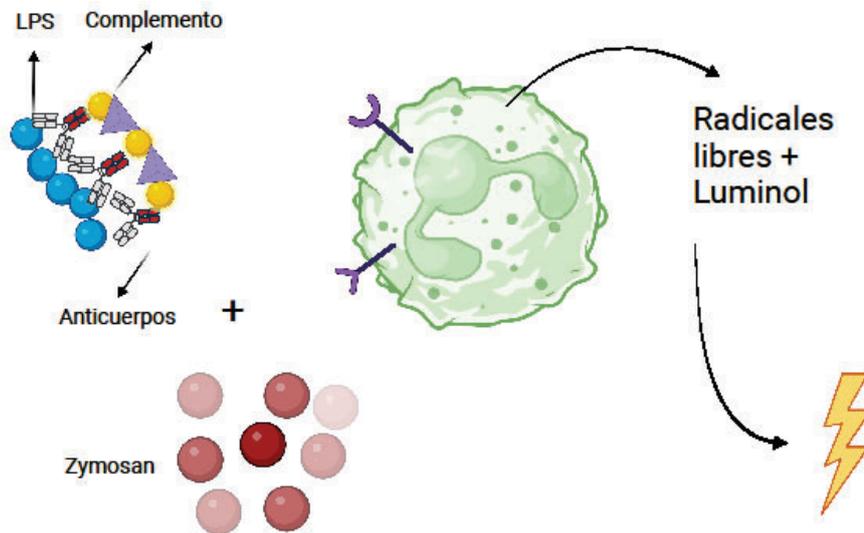


Figura 4. Determinación actividad endotoxina. Imagen propia creada con Biorender.

Los niveles se cuantifican como un valor relativo en unidades actividad a endotoxina (AE) de 0 a 1 y representan la media de determinaciones duplicadas de la misma muestra.

A diferencia de los ensayos basados en LAL, el EA es insensible a la contaminación ambiental extrínseca por endotoxinas. En ausencia de proteínas sanguíneas, el ensayo es aproximadamente de 500 a 1000 veces menos sensible a las endotoxinas debido a la necesidad de que las proteínas sanguíneas se desagreguen y expongan el dominio del lípido A en la sangre total para una unión eficaz al anticuerpo antilípido A (29).

La AE se ha evaluado en una multitud de patologías y/o situaciones: politraumatizado grave, pacientes pediátricos sometidos a una reparación quirúrgica de una cardiopatía congénita, pacientes sometidos a una circulación extracorpórea o aquellos que han recibido un trasplante hepático o multivisceral. En todos estos estudios, se observó una AE elevada y se asoció a un fenómeno secundario a la hipoperfusión intestinal, que en general se correlacionó a un peor pronóstico en todas estas situaciones (29,30).

Existen varios estudios en los que se ha valorado la AE en el paciente crítico, principalmente en el paciente en shock séptico (29-32).

De especial interés tiene el estudio MEDIC. Se trata de un estudio multicéntrico en el que se incluyeron 857 pacientes ingresados en UCI a los que se determinó la AE. Se correlacionaron los niveles elevados de AE al ingreso con el riesgo de desarrollar sepsis dentro de las 24 horas posteriores al ingreso en la UCI (odds ratio 3, $P < 0,001$), la gravedad de la enfermedad, riesgo de mortalidad hospitalaria y en la UCI, y riesgo de infección por gramnegativos. La AE tuvo una sensibilidad del 85,3 % para la detección de infecciones por gramnegativos y un valor predictivo negativo del 98,6 % para la exclusión de infecciones por gramnegativos y del 94,8 % para la exclusión de todas las infecciones. En este estudio también se observó endotoxemia en pacientes con infecciones por bacterias Gram positivas y otros tipos de infecciones, así como en pacientes sin diagnóstico de infección (32).

4.3.- Anticuerpos antiendotoxina.

En la década de los 90, Barclay, detectó los anticuerpos antiendotoxina a través de la técnica de enzaimunoenanálisis de adsorción. Estos anticuerpos, son específicos contra el núcleo de la endotoxina y tenía reacción cruzada con varias especies y cepas de bacterias Gram negativas (33).

Los primeros estudios que utilizaron esta técnica, evaluaron los niveles de anticuerpos antiendotoxina IgG (AcAE IgG) en el adulto sano. Los valores se expresaron como porcentaje del rango mediana, en unidades medianas (UM) por ml. Para establecer el rango normal, se tomó como referencia el percentil 10 y 90 (equivalente a 35 MU/ml y 250 MU/ml) (33) (Figura 5).



Figura 5. IgG antiendotoxina determinado en 1000 adultos sanos (33).

Los AcAE IgG, están presentes en nuestro torrente sanguíneo desde nuestro nacimiento. Probablemente se adquieren por vía trasnplacentaria.

En los tres primeros meses los AcAE IgG se reducen progresivamente, hasta que el organismo tiene capacidad para generar un título propio y mantenido. En el caso de los anticuerpos IgM antiendotoxina, en el momento del nacimiento están ausentes, pero se incrementan de manera gradual de tal manera que hacia el primer año los valores basales son similares a los del adulto (33). (Figura 6)

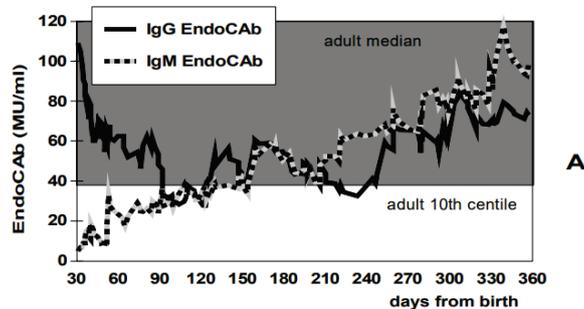


Figura 6. Evolución de los anticuerpos antiendotoxina IgM e IgG los primeros años de vida (33).

En ausencia de patología, los niveles de anticuerpos antiendotoxina permanecen estables. Este equilibrio se altera cuando irrumpe en el organismo la endotoxina. En esta situación se produce un consumo inicial de los anticuerpos circulantes (tanto IgG como IgM). Dado que el 80% de los AcAE IgG se encuentran en el tejido intersticial, este tipo de inmunoglobulina tardará más en deplecionarse que las IgM. La activación tanto de la inmunidad innata como de la adaptativa conducirá a una producción rápida y corta de inmunoglobulinas (AcAE) que inicialmente serán del tipo

IgM. La producción de IgG será más lenta y tardía. Por todo lo anterior, la cinética de IgM resulta más interesante para valorar un episodio de endotoxemia (33).

Barclay et al, observaron que en los casos de septicemia por *Neisseria meningitidis* (bacteria Gram negativa, sin LPS en su superficie), se producía un consumo de anticuerpos antiendotoxina probablemente por la liberación de endotoxina de fuentes endógenas como un fenómeno secundario a una manifestación de la propia enfermedad. Por lo tanto, la presencia de altas concentraciones de endotoxina circulante sería independiente del microorganismo causal responsable en el caso de sepsis, lo que podría sugerir que la endotoxina medible proviene de la microflora Gram negativa endógena de la superficie de las mucosas (33).

En resumen, la medición de los anticuerpos específicos antiendotoxina es un método de valoración validado, que puede emplearse como marcador de exposición a endotoxinas, incluso en situaciones en las que ésta no se puede medir.

5.- Traslocación bacteriana:

El intestino delgado y grueso, son órganos muy vascularizados a través de la circulación esplácnica. En situación basal, recibe una cuarta parte del gasto cardiaco, lo que hace que sea el órgano que recibe mayor flujo sanguíneo en reposo. Por otra parte, la mucosa intestinal tiene una elevada superficie de absorción (100m^2) gracias a la presencia de las vellosidades y microvellosidades, esto le otorga una importante actividad metabólica que en momentos de más demanda hace que reciba casi la mitad del flujo sanguíneo (34).

Es interesante hacer una especial mención a la vascularización de las vellosidades intestinales. La difusión de oxígeno se realiza a través de una arteria central hacia las venas submucosas (Figura 7). En ciertas circunstancias como el estrés físico o la hipovolemia, se produce una vasoconstricción esplácnica que se traduce en una reducción del flujo sanguíneo en la punta de las vellosidades, lo que provoca que la tensión tisular de oxígeno sea baja y por tanto existe mayor riesgo de presentar isquemia en esta región. Este suceso, se produce incluso cuando las variables hemodinámicas parecen sistémicamente adecuadas (34,35).

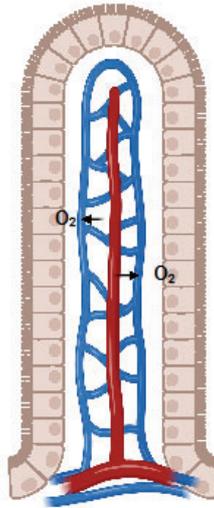


Figura 7. Anatomía de una microvellosidad intestinal. Imagen propia creada con Biorender.

El epitelio de la mucosa intestinal actúa como barrera que permite la adsorción de nutrientes, electrolitos y agua, y evita la entrada de toxinas, antígenos y microorganismos a la circulación sistémica. Existen dos vías de acceso a través del epitelio la paracelular (atravesando las uniones existentes entre las células epiteliales) o la transcelular (Figura 8).

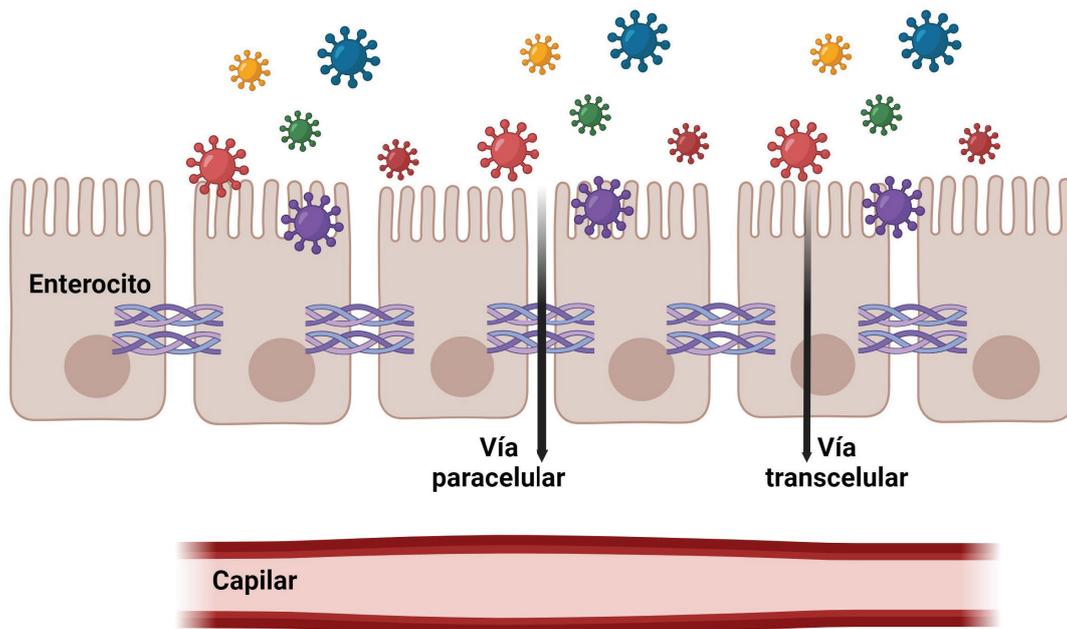


Figura 8. Vías de permeabilidad intestinal. Imagen propia creada con Biorender.

Las citoquinas proinflamatorias, los factores físicos (como el estrés osmótico), el tratamiento con ciertos medicamentos como los agentes antiinflamatorios no esteroideos, la desnutrición o la disbiosis intestinal, alteran la permeabilidad intestinal a través de su acción sobre las uniones celulares del epitelio intestinal (35).

Por lo tanto, el correcto funcionamiento de la barrera intestinal depende de tres mecanismos protectores; una flora bacteriana equilibrada que regule la ecología intestinal, una mucosa intestinal íntegra y un sistema inmune normofuncionante. Si uno de estos tres eslabones se rompe, las bacterias viables o sus productos (LPS) atra-

vesarán la mucosa intestinal y se propagarán por el sistema linfático alcanzado de este modo el medio interno. Este fenómeno, se denomina traslocación bacteriana (35).

Aunque generalmente, la traslocación se ha considerado como un evento patológico, en edades tempranas es un fenómeno que permite iniciar la memoria inmunológica intestinal (35). Existen patologías abdominales o gastrointestinales (pancreatitis aguda, mucositis secundaria a quimioterapia o isquemia intestinal, por ejemplo) que se ha relacionado claramente con la translocación intestinal. No obstante, en otro tipo de enfermedades no directamente relacionadas con el tracto intestinal también es posible que la traslocación bacteriana participe en la fisiopatología de las mismas. Este es el caso, de patologías como la insuficiencia cardiaca crónica (ICC). En pacientes con ICC estable (estadio funcional para la disnea de la New York Heart Association de II/IV) se ha constatado una hipoperfusión esplácnica, una atrofia de la mucosa intestinal y una endotoxemia acompañante. Esta situación se ha relacionado con un peor pronóstico y una mayor mortalidad y desnutrición (35-37). Aunque la investigación de este fenómeno ha sido menos productiva en el shock cardiogénico, es lógico considerar que esta situación se multiplicaría logarítmicamente.

6.- Endotoxina, en el paciente crítico.

Entendemos como paciente crítico a aquel paciente que padece un fracaso bien de un órgano o multiorgánico con compromiso vital, pero potencialmente reversible si recibe el tratamiento adecuado.

La exposición a la endotoxina es un fenómeno que suscita interés en este tipo de pacientes. El estudio MEDIC, es el estudio de cohortes observacional y prospectivo en paciente crítico de mayor tamaño muestral hasta la fecha (857 pacientes). Se analizó el comportamiento de la actividad endotoxina (AE) el primer día de ingreso y se comparó con una población de sujetos sano (94 sujetos). Los pacientes críticos tuvieron una mayor AE que los sujetos sanos, además la AE fue aún mayor en el subgrupo de pacientes críticos en situación de shock. También observaron que aquellos con más endotoxina al ingreso correspondían a la población con mayor comorbilidad y que a lo largo de su evolución presentaban peor pronóstico (32).

Históricamente, el paciente crítico en sepsis es aquel en el que más se ha estudiado la cinética de la endotoxina y de sus anticuerpos. La infección por BGN es una de las causas infecciosas de sepsis más estudiadas. El LPS, actúa como un potente activador tanto del sistema inmunitario innato como adaptativo del huésped. Es capaz de desencadenar una tormenta citobioquímica de inflamación sistémica que consuma provocando una situación sepsis o incluso shock séptico. El grado de exposición a la endotoxina circulante es un marcador de mal pronóstico, en estas patologías (17).

No obstante, en la literatura tenemos evidencia de endotoxemia en patologías no infecciosas con compromiso vital:

1. *Insuficiencia cardiaca*. La situación extrema de la insuficiencia cardiaca es el shock cardiogénico. En el paciente crítico en SC, se produce una disminución del flujo sistémico y de la oxigenación tisular siendo el intestino uno de los órganos que primero sufren el déficit circulatorio (37,38). La hipoperfusión esplácnica suele verse agravada por el uso de drogas vasoconstrictoras que reducen aún más el flujo sanguíneo intestinal. Además, este tipo de pacientes se ven sometidos con frecuencia a determinadas circunstancias (ausencia de nutrición enteral, tratamientos antimicrobianos bactericidas) que alteran el equilibrio intestinal al producir una atrofia de las microvellosidades y una modificación del microbiota (35). Todos estos factores, hacen que el paciente en shock cardiogénico sea especialmente vulnerable de sufrir una traslocación bacteriana y, por tanto, endotoxemia (17). Existen datos clínicos, analíticos e incluso hemodinámicos que de forma repetida parecen mostrar la existencia de un proceso séptico en el paciente en SC (39). De hecho, es frecuente que la presencia de fiebre, leucocitosis, elevación de la procalcitonina determinen la extracción de muestras biológicas para su estudio microbiológico (habitualmente infructuosos) e incluso se inicie tratamiento antimicrobiano. Algunos autores han apuntado hacia la posible participación de la endotoxina en este *sepsi-like* síndrome, sin embargo, esta hipótesis ha sido escasamente explorada hasta el momento.
2. *Politraumatismo*. En el paciente politraumatizado grave, se detectaron valores crecientes de AE en los primeros días tras el traumatismo (pico el tercer día). La situación de shock al ingreso y la necesidad de cirugía se asociaron a una mayor AE. En aquellos casos en los que se documentó una infección, la endotoxemia estuvo

presente tanto en las infecciones por BGN como por Gram positivos. En ausencia de infección se consideró que el origen de la endotoxemia fue la isquemia intestinal derivada del trauma o bien secundaria a fenómenos de traslocación bacteriana. El grado de AE se correlacionó con el grado de disfunción orgánica (40).

3. *Paciente gran quemado.* En el gran quemado, se produce una disfunción de la barrera intestinal. Por un lado, se produce una expresión alterada de las proteínas implicadas en la estrecha unión entre los enterocitos, lo que facilita la traslocación bacteriana. Por otro lado, las quemaduras causan una extravasación de plasma que conduce a un shock distributivo lo que deriva en una hipoxia e isquemia de los tejidos, entre ellos la mucosa intestinal. Además, en este tipo de pacientes el hipercatabolismo o la intensa respuesta inflamatoria generada por el daño, agrava las alteraciones presentes en la mucosa intestinal y por tanto la posibilidad de endotoxemia y las consecuencias derivadas de ésta (41).

4. *Pancreatitis aguda.* La pancreatitis aguda es el resultado del daño de los acinos pancreáticos por radicales libres de oxígeno, lo que libera enzimas digestivas (autodigestión pancreática), activación de proteasas y lipasas que dañan los tejidos provocando edema, lesiones vasculares, hemorragia y necrosis en el propio órgano. Este proceso inicialmente local, genera unos efectos sistémicos dando lugar a un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Dicha inflamación puede conducir a un fracaso multiorgánico que requerirá de un manejo en la unidad de cuidados intensivos. (42)

Beaux De et al, evaluaron el papel de los AcAE IgM e IgG en esta patología. Observaron valores bajos de AcAE IgM en todos los pacientes con criterios diagnósticos de pancreatitis aguda grave, y títulos especialmente bajos de AcAE IgG en aquellos pacientes con fracaso multiorgánico. Los autores argumentaron que los hallazgos descritos eran el resultado del consumo de anticuerpos por la presencia de LPS en la circulación sanguínea (43).

5. *Cirugía mayor.* En ocasiones los pacientes sometidos a intervenciones quirúrgicas de elevada complejidad pasan por un periodo de vulnerabilidad del que se pueden derivar complicaciones que comprometan su estado vital, por ello es frecuente que requieran un manejo en la unidad de cuidados intensivos.

En un estudio observacional prospectivo de 40 pacientes trasplantados hepáticos, se analizó la AE durante la cirugía y se monitorizó hasta un mes después del trasplante. En los receptores, el valor medio de AE antes de la cirugía fue significativamente más elevado que los controles sanos y la AE aumentó considerablemente tras la reperfusión del injerto. En el caso de rechazo, se observó un incremento de la AE y en varios pacientes los niveles de AE permanecieron elevados durante cuatro semanas. Se conjeturó que la persistencia de AE elevada en el rechazo se debía a la disfunción hepática dado el papel activo del hígado en la eliminación de endotoxinas. (44).

En la cirugía cardíaca también se ha estudiado la AE. En 54 pacientes a los que se realizó a un bypass aortocoronario sometidos a circulación extracorpórea, se determinó la AE en distintos tiempos. Se objetivó una correlación positiva con la

duración de la cirugía, y determinaron que los pacientes con valores de AE intermedios y altos tenían más riesgo de padecer infecciones postoperatorias (45).

A pesar de que, en la literatura, existen numerosos artículos que analizan de la presencia de endotoxina en el paciente crítico, su papel como marcador pronóstico o como posible diana terapéutica continúan siendo incierto.

II. HIPOTESIS

1.- El estudio de la exposición a la endotoxina en el paciente crítico permitiría profundizar en los mecanismos fisiopatológicos tanto del proceso infeccioso como de otras entidades tales como el shock cardiogénico.

2.- La cinética del consumo/producción de anticuerpos frente a la endotoxina en el shock séptico dependerá del tipo de microorganismo y de la gravedad de la infección.

3.- En los pacientes en shock cardiogénico la hipoperfusión intestinal dará lugar a una hipoperfusión de la mucosa y a una traslocación bacteriana en forma de endotoxemia que podría participar en la génesis de los fenómenos inflamatorios observados.

III.OBJETIVOS

Objetivos principales.

1. Analizar la participación de la endotoxina en el fracaso cardiovascular.
2. Analizar la cinética de los anticuerpos antiendotoxina en el shock cardiogénico.
3. Comparar la cinética de los anticuerpos antiendotoxina en el shock cardiogénico y shock séptico.

Objetivos secundarios.

1. Describir la respuesta inflamatoria mediante parámetros clínicos y analíticos (biomarcadores inflamatorios: PCR, PCT e IL6) en el paciente en shock cardiogénico.
2. Analizar la correlación entre el título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock cardiogénico.
3. Analizar la capacidad predictora del título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock cardiogénico.
4. Describir la respuesta inflamatoria mediante parámetros clínicos y analíticos (biomarcadores inflamatorios: PCR, PCT e IL6) en el paciente en shock séptico.
5. Analizar el título de Ac IgM antiLPS en relación con la etiología del shock séptico.
6. Analizar la correlación entre el título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock séptico.
7. Analizar la capacidad predictora del título de Ac IgM antiLPS y los de biomarcadores de inflamación en el paciente en shock séptico.

IV. MATERIAL Y METODOS, Y RESULTADOS

PRIMER ARTICULO

Título del artículo: "Septic participation in cardiogenic shock: exposure to bacterial endotoxin".

Objetivo del estudio:

- Analizar la participación de la endotoxina en el fracaso cardiovascular.
- Analizar la cinética de los anticuerpos antiendotoxina en el shock cardiogénico.

Resumen:

Objetivo: El paciente en shock cardiogénico (SC), con frecuencia, presenta de fiebre, leucocitosis, resistencias vasculares sistémicas bajas y niveles elevados de procalcitonina sérica lo que implican la búsqueda de una enfermedad infecciosa concomitante. Nuestra hipótesis es que la exposición a endotoxinas en el SC podría explicar este síndrome similar a la sepsis.

Diseño: Estudio observacional prospectivo de pacientes consecutivos con SC ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI). Los pacientes eran seguidos durante los primeros 3 días después del inicio de SC. Se recogieron todos los datos clínicos, hemodinámicos y microbiológicos. Se midieron diariamente biomarcadores inflamatorios y anticuerpos antiendotoxina (IgM EndoCAb).

Resultados: Se incluyeron 37 pacientes consecutivos con SC. 22 pacientes (60%) tenían una temperatura corporal $>38,38^{\circ}\text{C}$ o $<35,8^{\circ}\text{C}$; y 23 pacientes (62%) tenían un recuento de leucocitos $>14.000/\text{mm}^3$ o $<4.000/\text{mm}^3$. El estudio microbiológico se realizó en 30 pacientes (81%). No se diagnosticó infección en los pacientes estudiados. Todos los pacientes tenían niveles de biomarcadores inflamatorios por encima de los valores

normales, incluida la procalcitonina (19 pacientes [51%] tenían procalcitonina sérica por encima de 2 ng/ml). Todos los pacientes tenían IgM EndoCAb por debajo del valor medio normal; 22 pacientes (59,5%) tenían un valor de antiendotoxina IgM inferior al percentil 10 para personas sanas. La estabilización hemodinámica y respiratoria se logró en 23 pacientes (62%) y la tasa de mortalidad en la UCI fue del 38%, solo la procalcitonina y la interleuquina-6 se asociaron con una mayor tasa de mortalidad.

Conclusión: Se detectaron títulos extremadamente bajos de IgM EndoCAb en SC, lo que sugiere exposición a endotoxinas. Sin embargo, sólo los biomarcadores inflamatorios se relacionaron con la mortalidad en la UCI.

SEPTIC PARTICIPATION IN CARDIOGENIC SHOCK: EXPOSURE TO BACTERIAL ENDOTOXIN

Paula Ramirez,^{*†} Esther Villarreal,^{*} Monica Gordon,^{*} María Dolores Gómez,[‡] Luis de Hevia,^{*} Karla Vacacela,^{*} Teresa Gisbert,^{*} Adrian Quinzá,^{*} Jesús Ruiz,^{*} Ricardo Alonso,[§] Juan Bonastre,^{*} and Jordi Vila^{||}

^{*}Critical Care Department, University Hospital la Fe, Valencia; [†]Centro de Investigación Biomedica En Red-Enfermedades Respiratorias (CibeRes, CB06/06/0028), Carlos III Research Institute, Madrid; [‡]Microbiology Department, University Hospital la Fe; [§]Laboratory Department, University Hospital la Fe, Valencia; and ^{||}Department of Microbiology, Hospital Clinic, IDIBAPS, School of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain

Received 16 Aug 2016; first review completed 8 Sep 2016; accepted in final form 10 Nov 2016

ABSTRACT—Objective: In cardiogenic shock (CS), presence of fever, leukocytosis, relatively low systemic vascular resistances, and high serum procalcitonin levels are quite frequent and recurrently involve the search for an infectious complication. We hypothesized that endotoxin exposure in CS could explain this sepsis-like syndrome. **Design and Setting:** Prospective observational study of consecutive CS patients admitted to our intensive care unit (ICU). Patients were followed during the first 3 days after CS onset. All clinical, hemodynamic, and microbiological data were collected. Inflammatory biomarkers and anti-endotoxin antibodies (IgM EndoCAB) were daily measured. **Patients:** We included 37 consecutive CS patients. Measurements and Main Results: Twenty-two patients (60%) had body temperature $>38.3^{\circ}\text{C}$ or $<35^{\circ}\text{C}$; and 23 patients (62%) had a leucocyte count $>14,000/\text{mm}^3$ or $<4,000/\text{mm}^3$. Microbiological study was performed in 30 patients (81%). No infection was diagnosed in the studied patients. All the patients had serum inflammatory biomarkers levels above normal values including procalcitonin (19 patients [51%] had serum procalcitonin above 2 ng/mL). All the patients had IgM EndoCAB below the normal median value; 22 patients (59.5%) had IgM anti-endotoxin value below 10th percentile range for healthy people. Hemodynamic and respiratory stabilization was achieved in 23 patients (62%) and the ICU mortality rate was 38%, only procalcitonin and interleukin-6 were associated with higher mortality rate. **Conclusion:** We have detected extremely low titers of IgM EndoCAB in CS suggesting endotoxin exposure. However, only inflammatory biomarkers were related to ICU mortality.

KEYWORDS—Cardiogenic shock, endotoxin, procalcitonin, sepsis-like syndrome

INTRODUCTION

Heart failure is the main and initial factor in cardiogenic shock (CS). However, tissue ischemia and inflammatory response leads to a more complex pathophysiology and even to the blurring of the limits of this type of hemodynamic failure (1). The presence of leukocytosis, high levels of inflammatory biomarkers, fever, and even a decrease in systemic vascular resistances indicates the existence of an intense inflammatory process (2). Actually, it is even possible to detect an increase in molecules such as procalcitonin (PCT), which theoretically would indicate the presence of an infectious process (3, 4). In this context, searching for an active infection is frequent and usually fruitless. Some authors have hypothesized the possibility of intestinal bacterial toxin translocation as the cause of this sepsis-like syndrome (4).

On the same line, it has been demonstrated the existence of alterations in the intestinal mucosa of patients with chronic heart failure (5). Chronic intestinal hypoperfusion will lead to the thinning of the mucosa, to an increased intestinal permeability, and finally to an endotoxemic state (6–9). This

situation has been correlated to a poorer outcome of the patients (8, 9).

Endotoxaemia can be demonstrated by endotoxin determination or by measuring endotoxin activity. However, endotoxin determination can be affected by the endotoxin binding to its natural antibodies, which could produce some erroneously low values (10, 11). Endotoxin activity analysis requires a specific technology and blood samples must be processed immediately (12). Another possibility for the detection of endotoxaemia is the determination of anti-endotoxin antibodies (13, 14). Exposure to a large amount of endotoxin will cause a change in antibody titer, which has been applied to the diagnosis and monitoring of various pathological entities (15–20).

In this study, we aim to test the hypothesis that endotoxaemia exists in many patients in CS. To demonstrate endotoxin exposure in CS we will analyze clinical, microbiological, and inflammatory data, and finally the anti-endotoxin title antibodies titer in CS patients admitted to our intensive care unit (ICU).

METHODS

Study design and inclusion criteria

Prospective observational study performed in a 24-bed medical ICU of a 1,200-bed university hospital. We included and followed up all consecutive patients with CS. During the first 3 days after CS onset serum samples were collected to analyze inflammatory biomarkers (C-reactive protein [CRP], PCT,

Address reprint requests to Paula Ramirez, PhD, Critical Care Department, University Hospital la Fe, Boulevard Vicente Abril Martorell 106, 46026 Valencia, Spain; E-mail: ramirez_pau@gva.es

The authors report no conflicts of interest.

DOI: 10.1097/SHK.0000000000000798

Copyright © 2016 by the Shock Society

and interleukin-6 (IL-6) and IgM antiendotoxin-core antibodies (IgM Endo-CAb). The Institutional Review Board approved the study and informed consent was obtained from the patients' relatives.

Data collection protocol

The following data were collected on study inclusion: sex, comorbidities, severity scores prior to intubation (including Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score-II (21), Sepsis-related Organ Failure Assessment Score (22), and the reason for ICU admission). Clinical, analytical, hemodynamic data, and therapeutic measures concerning CS were recorded along ICU stay. Nosocomial infections were pursued by means of daily evaluation of signs and symptoms and microbiological assessment in case of clinical suspect.

Definitions

Cardiogenic shock—Patients had to fulfill all this criteria: persistent hypotension (systolic blood pressure <80–90 mm Hg or mean arterial pressure 30 mm Hg lower than baseline); severe reduction in cardiac index (<1.8 L/min/m² without support or <2.0–2.2 L/min/m² with support) or severe left ventricular systolic dysfunction detected by echocardiography and adequate or elevated filling pressure assessed by pulmonary artery catheterization or by Doppler echocardiography, and tissue hypoperfusion manifested by cool extremities, decreased urine output, and/or alteration in mental status (23).

Diagnosis of infection—Infection diagnosis was established according to the Center for Disease Control criteria. In summary infection diagnosis requires the presence of some clinical criteria followed by a microbiological confirmation (24). For ventilator-associated pneumonia (VAP) two or more of the following should be present: temperature greater than 38°C, leukocytosis greater than 12,000/mm³ or leucopenia lower than 4,000/mm³, or purulent respiratory secretions; plus a new or progressive pulmonary infiltrate on chest x-ray. VAP confirmation was defined by the quantitative culture of tracheobronchial aspirate $\geq 10^5$ cfu/mL², bronchoalveolar lavage with $\geq 10^4$ cfu/mL, or mini bronchoalveolar lavage $\geq 10^3$ cfu/mL (25).

Hemodynamic and respiratory stabilization—During study follow-up clinical response (stabilization by means of therapeutic interventions) was considered when tissue oxygenation was normalized (serum lactate normalization) and oxygenation was improved with a PaO₂/FiO₂ ≥ 250 .

Study of inflammatory markers

Blood samples were centrifuged (1,500 rpm, 10 min) and serum was frozen at –80°C. PCT was measured by time-resolved amplified cryptate emission technology in a Kryptor analyzer (Brahms Diagnostica, Berlin, Germany). Measurement of CRP was performed with an immunoturbidimetric method using a commercial kit (Tina-quant CRP, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). IL6 was measured by electrochemiluminescence in the Cobas 6000 (E-170), Roche Diagnostics.

Study of antiendotoxin antibodies

Commercially available enzyme-linked immunosorbent assays were used according to the manufacturers' protocols for measuring EndoCAB IgM (Hycult Biotech, Uden, The Netherlands). The EndoCAB ELISA was originally devised to screen blood donor plasma for high-titer antibodies to endotoxin core, which are cross-reactive with endotoxins of a number of gram-negative bacterial species, and was then applied to a variety of clinical studies. The EndoCAB standard median-units IgM (MU) are arbitrary and based on medians of ranges for 1,000 healthy adults; 10th to 90th percentile range has been established at 35 MU/mL to 250 MU/mL an mean normal value at 100 MU/mL (14).

Statistical analysis

Continuous variables were compared using the Student *t* test for normally distributed variables and the Mann–Whitney *U* test for non-normally distributed variables. Categorical variables were compared using the Chi-square and the Fisher exact tests when appropriate. The threshold for statistical tests significance was set at 5%. The collected data were entered and analyzed in SPSS 15.0 software (SPSS, Chicago, Ill).

RESULTS

Description of the population

Thirty-seven consecutive patients with CS were included in the study. Most of the patients were male (*n* 27; 73%) and mean age was 58.7 ± 11 years. Mortality rate was 37.8% (*n* = 14).

Twenty-two patients (60%) had body temperature >38.3°C or <35°C; and 23 patients (62%) had a leucocyte count >14,000/mm³ or <4,000/mm³. There was clinical suspicion of infection and therefore antibiotic treatment onset and performance of microbiological study (blood cultures, respiratory sample culture, or/and urine culture) in 30 patients (81%). No infection was finally diagnosed. Clinical, hemodynamic, and therapeutic maneuvers are depicted in Tables 1 and 2.

Inflammatory biomarkers

All patients had serum PCT levels above normal values (0.5 ng/mL). Moreover, 51.4% of the cases (*n* = 19) had at least one PCT value above 2 ng/mL, and 10 patients (27%) had at least one PCT value above 5 ng/mL. Maximum values of inflammatory biomarkers can be observed in Table 2.

Antiendotoxin antibodies

All patients had antiendotoxin antibodies below the normal median value (100 MU/mL). Twenty-two patients (59.5%) had IgM anti-endotoxin value below 10th percentile range for healthy people. There were no values above 90th percentile range for healthy people.

Patient outcomes

Along follow-up, hemodynamic and respiratory stabilization was achieved in 23 patients (62%) by means of different therapeutic measures. Clinical stabilization was not related to markers of inflammation or to anti-endotoxin antibodies titers.

ICU mortality rate was 38%; EndoCAB titers were not associated with patient prognosis, only PCT and IL-6 were associated with higher mortality rate (Table 2, Fig. 1).

Clinical stabilization and mortality were not associated even with an extremely low titer of anti-endotoxin antibodies (below the 10th percentile). However, although it did not reach statistical significance, clinical stabilization was less common in patients with an antibody titer below the 10th percentile (52% vs. 79%; *P* = 0.103).

DISCUSSION

Our study has been able to demonstrate a disorder in the human endotoxin equilibrium in patients in CS, which could explain the presence of the sepsis-like syndrome so prevalent in these patients. Exposure to endotoxin was an extremely common situation in our series although it was not possible to establish any relationship with the prognosis of our patients.

Heart failure is the main and initial factor in CS. However, tissue ischemia and inflammatory response leads to a more complex pathophysiology and even to the blurring of the limits of this type of hemodynamic failure (1, 2). Recent research has suggested that the peripheral vasculature and neurohormonal and cytokine systems play a role in the pathogenesis and persistence of CS. Inflammatory mediators have been related to this situation and also other circulating factors (complement, procalcitonin, neopterin, C-reactive protein, stress oxidative products) have been reported to contribute to systemic inflammatory syndrome in CS (26–29). At this point, the question is

TABLE 1. Demographic and clinical characteristics of CS at ICU admission

	Global (n 37)	Survivors (n 23)	Non-survivors (n 14)	P
Male n (%)	27 (73%)	17 (74%)	10 (71%)	0.869
Age	58 [51–64]	57 [49–63]	61 [56–65]	0.156
APACHE II	13 [8–17]	10 [8–14]	17 [13–23]	0.013
Smoking n (%)	17 (46%)	12 (52%)	5 (36%)	0.429
Alcohol n (%)	2 (5%)	2 (9%)	0	0.274
Diabetes mellitus n (%)	11 (20%)	5 (22%)	6 (43%)	0.127
Hypertension n (%)	13 (35%)	8 (35%)	5 (36%)	0.825
COPD n (%)	4 (11%)	2 (9%)	2 (14%)	0.540
Prior myocardial infarction n (%)	10 (27%)	9 (39%)	1 (7%)	0.071
CHF n (%)	17 (46%)	11 (48%)	6 (43%)	0.769
NYHA				
I	18 (49%)	12 (52%)	6 (43%)	0.324
II	9 (24%)	6 (26%)	3 (21%)	
III	8 (22%)	3 (13%)	5 (36%)	
IV	2 (5%)	2 (9%)	0	
ICU admission indication				
AMI n (%)	28 (76%)	19 (83%)	9 (64%)	0.300
Decompensated CHF n (%)	8 (22%)	3 (13%)	5 (36%)	
Heart transplant rejection n (%)	1 (3%)	1 (4%)	0	
Invasive mechanical ventilation n (%)	29 (78%)	17 (74%)	12 (86%)	0.683
Noninvasive mechanical ventilation n (%)	17 (46%)	10 (43%)	7 (50%)	0.699
Norepinephrine n (%)	27 (73%)	15 (65%)	12 (86%)	0.164
Max dose norepinephrine (mcg/kg/min)	1.09 [0.7–1.7]	1 [0.5–1.4]	1.3 [0.9–1.9]	0.097
Dobutamine n (%)	33 (89%)	21 (91%)	12 (86%)	0.491
Max dose dobutamine (mcg/kg/min)	11 [7–16]	11 [8–15]	14 [6–20]	0.767
Levosimendan n (%)	15 (40%)	12 (52%)	3 (21%)	0.133
ECMO n (%)	15 (40%)	11 (48%)	4 (29%)	0.247
CRRT n (%)	4 (11%)	2 (9%)	2 (14%)	0.491
IABP n (%)	17 (46%)	12 (52%)	5 (36%)	0.330

Results are expressed as median with p^{25} and p^{75} quartiles.

AMI indicates acute myocardial infarction; CHF, chronic heart failure; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CRRT, continuous renal replacement therapy; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation; IABP, intra-aortic balloon pump; ICU, intensive care unit; NYHA, New York Heart Association.

TABLE 2. Clinical, hemodynamic, and laboratory parameters during patient follow-up

	Global (n 37)	Survivors (n 23)	Non-survivors (n 14)	P
Maximum SOFA	8 [7–10]	8 [6–9]	9 [8–12]	0.039
Axilar temperature				
Max	38 [37.1–38.1]	38 [37–38]	38 [37.5–38.2]	0.701
Min	36 [35.6–36.5]	36 [36–36.5]	36 [35.5–36]	0.178
Leucocyte count				
Max	14,700 [10,050–18,050]	15,100 [10,000–18,600]	14,700 [12,900–16,500]	0.724
Min	9,300 [7,100–11,150]	9,300 [8,300–11,200]	8,950 [5,300–10,300]	0.466
PCT max (ng/mL)	2.4 [0.4–6.73]	0.73 [0.35–2.79]	7.3 [2.5–13.9]	0.008
CRP max (mg/dL)	201.5 [124.6–278.3]	180.4 [121.7–251.1]	223.1 [124.6–369.4]	0.416
IL ₆ max (pg/mL)	307.7 [138.4–534.4]	221.1 [75.2–338.6]	541.4 [383.5–2340]	<0.001
EndoCab min (MU/mL)	17.73 [11.01–31.86]	17.39 [11.9–32.8]	19.11 [9.51–31.86]	0.851
ISVR (dyne/s per cm ⁵)	1,969 [1,712–2,622]	1,969 [1,851–2,245]	1,705 [410–3,000]	0.857
PCWP (mm Hg)	23 [20–30]	24 [21–32]	22.5 [16.5–24.5]	0.297
Cardiac index L/min per m ²	2.7 [2.2–2.8]	2.5 [2.1–2.8]	2.7 [2.5–2.8]	0.416
Lactate (mmol/L)	3.5 [2.1–6.2]	2.8 [2.1–4]	5.5 [3.5–9]	0.014
PaO ₂ /FiO ₂	180 [138–297]	177 [144–345]	184 [126–216]	0.427
Creatinine (mg/dL)	1.2 [1–2.1]	1 [0.9–1.5]	1.6 [1.3–2.7]	0.004
AST (U/L)	373 [77–937]	215 [70–694]	503 [118–1558]	0.098
ALT (U/L)	114 [57–278]	102 [57–188]	143 [57–1027]	0.191
Bilirrubine (mg/dL)	1.15 [0.7–1.9]	1.1 [0.7–1.5]	1.3 [0.7–2.1]	0.347
Blood culture	30 (81%)	18 (78%)	12 (86%)	0.254
Urine culture	24 (65%)	16 (70%)	8 (57%)	0.491
Respiratory sample culture	23 (62%)	15 (65%)	8 (57%)	0.689
Heart transplant n (%)	11 (20%)	11 (48%)	0	0.002

Blood samples were collected at study admission and every morning (08:00 h AM) for follow-up. Results are expressed as median with p^{25} and p^{75} quartiles.

CRP indicates C-reactive protein; ISVR, indexed systemic vascular resistance; PCT, procalcitonin; PCWP, pulmonary-capillary wedge pressure; SOFA, sepsis organ failure score.

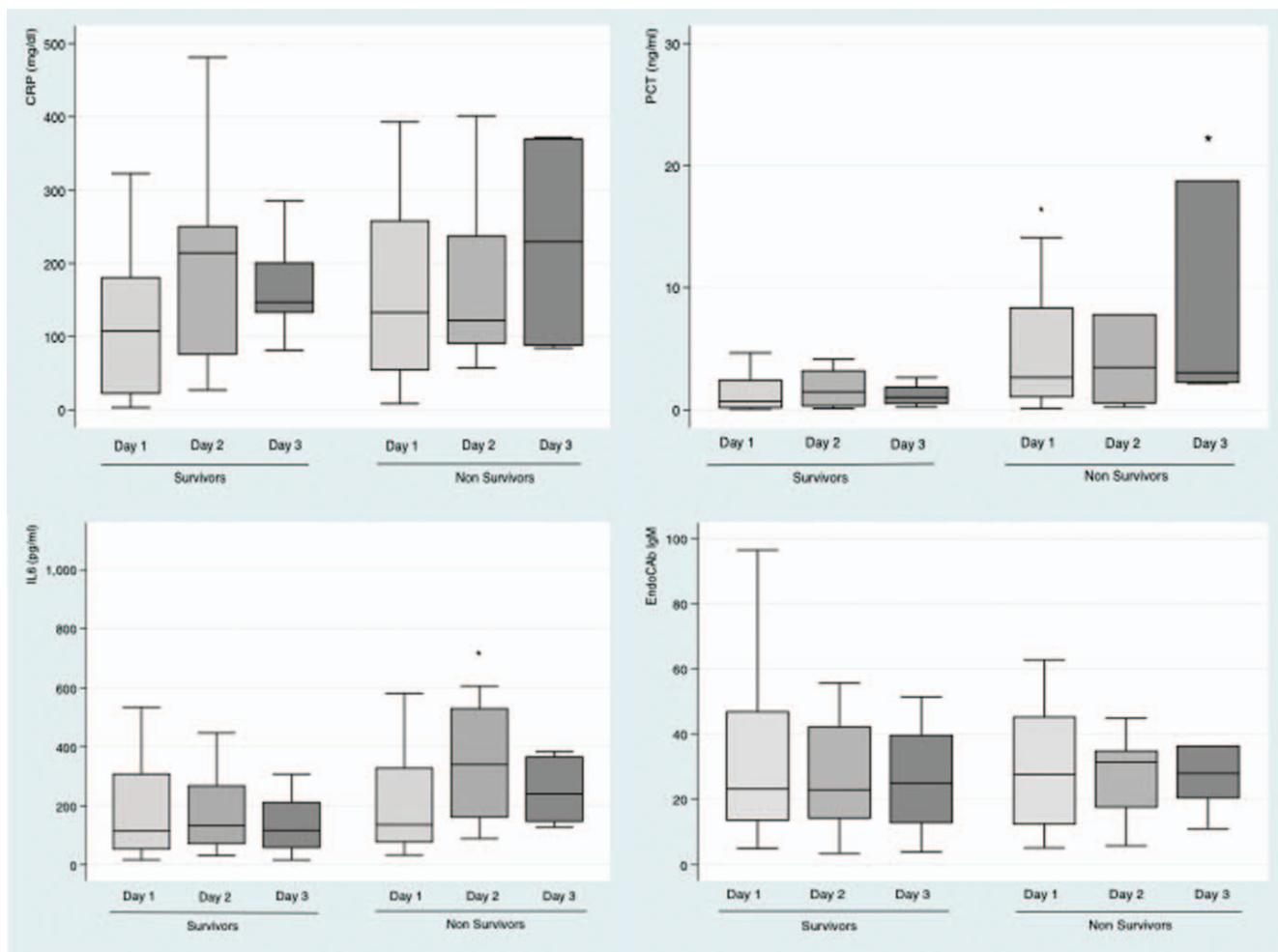


FIG. 1. Kinetics of C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), interleukine-6 (IL-6), and antiendotoxin IgM antibodies (EndoCAb IgM) levels on admission (day 1), day 2, and day 3 in 37 cardiogenic shock patients; survivors (n 23) and nonsurvivors (n 14). Data are expressed as median (25%–75% quartile). * $P < 0.05$ versus non-survivor group.

whether this inflammatory reaction/vasodilatation is maintained only by the pump failure and the tissue ischemia or if there is some other hidden motor that causes and maintains multiple organ dysfunction.

The inability to diagnose an infectious complication besides the existence of elevated biomarkers of infection has led some authors to hypothesize about the possibility that their CS patients had suffered the effect of an endotoxin inoculum from the intestinal tract (4). This hypothesis has a solid foundation given the accumulated evidence of intestinal involvement in the pathogenesis of chronic heart failure (CHF) (5). It has been demonstrated that CHF patients have an intestinal bowel wall thickness, a 35% increase of small intestinal permeability (lactulose/mannitol ratio), a 210% increase of large intestinal permeability (sucralose excretion), and a 29% decrease of D-xylose absorption (8). The origin of these alterations is a reduction of 30% to 43% of mean systolic blood flow in the superior and inferior mesenteric arteries and celiac trunk found in CHF patients, and is directly linked with cardiac cachexia (9).

We have evaluated the presence of endotoxin in CS patients by means of IgM EndoCAb serum titer. Almost from birth our body is exposed to endotoxin from bacteria that inhabit

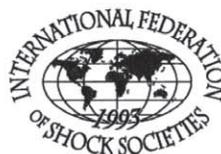
our intestines and therefore there is a constant production of anti LPS antibodies (13). Endotoxin exposure perturbs EndoCAb homeostasis; in general, both IgG and IgM EndoCAb are depleted by the initial endotoxaemia. EndoCAb depletion has been demonstrated in sepsis, pancreatitis, cardiac surgery, and even after extenuating exercise (15–20). Moreover, an association has been shown between depressed EndoCAb and poor clinical outcome in different clinical conditions (15–17).

The design of our study reflects the idea of a proof of concept and therefore suffers from many limitations. First, it would be necessary to study a larger number of patients ideally from different health centers. A larger sample could establish a link prognosis exposure to endotoxin. Second, it would be very desirable to have a multimodal approach that includes parameters indicating the existence of an intestinal injury, the presence of bacteria in the bloodstream by molecular analysis (human microbiome), the sequential determination of circulating endotoxin by LAL test, and the existence of a specific immune reaction to endotoxemia (soluble CD14 and lipopolysaccharide-binding protein). Finally, we only followed patients during the first 3 days after CS onset; probably, it would be of great interest to prolong the tracking of patients.

In conclusion, we have detected extremely low titers of IgM EndoCAB in CS showing endotoxin exposure. This finding justifies conducting more comprehensive and detailed studies and opens the door to potential therapeutic interventions to prevent bacterial translocation or to treat endotoxemia.

REFERENCES

- Reynolds HR, Hochman JS: Cardiogenic shock current concepts and improving outcomes. *Circulation* 117:686–697, 2008.
- Kohsaka S, Menon V, Lowe AM, Sleeper LA, Hochman JS, SHOCK Investigators: Systemic inflammatory response syndrome after acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *Arch Intern Med* 165:1643–1650, 2005.
- Picariello C1, Lazzeri C, Chiostrì M, Gensini GF, Valente S: Kinetic of procalcitonin in patients with cardiogenic shock following acute myocardial infarction: preliminary data. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth* 2(3):201–207, 2010.
- Brunkhorst FM, Clark AL, Forycki ZF, Anker SD: Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. *Int J Cardiol* 72(1):3–10, 1999.
- Krack A, Sharma R, Figulla HR, Anker SD: The importance of the gastrointestinal system in the pathogenesis of heart failure. *Eur Heart J* 26:2368–2374, 2005.
- Peschela T, Schönauer M, Thiele H, Anker B, Schulera G, Niebauer J: Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail* 5:609–614, 2003.
- Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M: Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 353:1838–1842, 1999.
- Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, Schroedl W, Karhausen T, Doehner W, Rauchhaus M, et al.: Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 50:1561–1569, 2007.
- Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, Watson A, Valentova M, Herrmann R, Scherbakov N, Cramer L, Rauchhaus M, Grosse-Herrenthey A, et al.: Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *J Am Coll Cardiol* 64:1092–1102, 2014.
- Brandenburg K, Howe J, Gutsman T, Garidel P: The expression of endotoxin activity in the Limulus test as compared to cytokine production in immune cells. *Curr Med Chem* 16(21):2653–2660, 2009.
- Bishop RE: Fundamentals of endotoxin structure and function. *Contrib Microbiol* 12:1–27, 2005.
- Romaschin AD, Klein DJ, Marshall JC: Bench-to bedside review: clinical experience with the endotoxin activity assay. *Crit Care* 16(6):248, 2012.
- Barclay GR: Endogenous endotoxin-core antibody (EndoCAB) as a marker of endotoxin exposure and a prognostic indicator: a review. *Prog Clin Biol Res* 392:263–272, 1995.
- Nys M, Laub R, Damas P, Sondag D, Goethals T, Jamaer D, Joassin L, Lamy M: Screening and characterization of specific anti-lipopolysaccharide antibodies in Belgian blood donors by enzyme-linked immunosorbent assays. *Eur J Clin Invest* 26(12):1134–1142, 1996.
- Strutz F, Heller G, Krasemann K, Krone B, Müller GA: Relationship of antibodies to endotoxin core to mortality in medical patients with sepsis syndrome. *Intensive Care Med* 25:435–444, 1999.
- Martínez J, Palazón JM, Muñoz C, López M, Sánchez-Payá J, Laveda R, Pérez-Mateo M: Endotoxin and anti-endotoxin antibodies in the prognosis of acute pancreatitis. *Rev Esp Enferm Dig* 94:406–416, 2002.
- Rothenburger M, Soeparwata R, Deng MC, Berendes E, Schmid C, Tjan TD, Wilhelm MJ, Erren M, Böcker D, Scheld HH: The impact of anti-endotoxin core antibodies on endotoxin and cytokine release and ventilation time after cardiac surgery. *J Am Coll Cardiol* 38:124–130, 2001.
- Rothenburger M, Soeparwata R, Deng MC, Schmid C, Berendes E, Tjan TD, Wilhelm MJ, Erren M, Böcker D, Scheld HH: Prediction of clinical outcome after cardiac surgery: the role of cytokines, endotoxin, and anti-endotoxin core antibodies. *Shock* 16(suppl 1):44–50, 2001.
- Goldie AS, Fearon KC, Ross JA, Barclay GR, Jackson RE, Grant IS, Ramsay G, Blyth AS, Howie JC: Natural cytokine antagonists and endogenous antiendotoxin core antibodies in sepsis syndrome. The Sepsis Intervention Group. *JAMA* 274:172–177, 1995.
- Camus G, Nys M, Poortmans JR, Venneman I, Monfils T, Deby-Dupont G, Juchmès-Ferir A, Deby C, Lamy M, Duchateau J: Endotoxaemia, production of tumour necrosis factor alpha and polymorphonuclear neutrophil activation following strenuous exercise in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 79:62–68, 1998.
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE: APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13:818–829, 1985.
- Vicent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG: The SOFA (sepsis-related organ failure assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the working group of sepsis-related problems of the European society of intensive care medicine. *Intensive Care Med* 22:707–710, 1996.
- Hochman JS, Sleeper LA, Webb JG, Sanborn TA, White HD, Talley JD, Buller CE, Jacobs AK, Slater JN, Col J, et al.: Early revascularization in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *N Engl J Med* 341:625–634, 1999.
- Horan TC, Andrus M, Dudeck MA: CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control* 36:1105–1113, 2008.
- Papazian L, Thomas P, Garbe L, Guignon I, Thirion X, Charrel J, Bollet C, Fuentes P, Gouin F: Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 152(6):1982–1991, 1995.
- Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, Richardt G, Holzapfel H, Jochum M, Schömig A: Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction. *Circulation* 92:748–755, 1995.
- Menon V, Slater JN, White HD, Sleeper LA, Cocke T, Hochman JS: Acute myocardial infarction complicated by systemic hypoperfusion without hypotension: report of the SHOCK trial registry. *Am J Med* 108:374–380, 2000.
- Liuzzo G, Buffon A, Biasucci LM, Gallimore JR, Caligiuri G, Vitelli A, Altamura S, Ciliberto G, Rebuzzi AG, Crea F, et al.: Enhanced inflammatory response to coronary angioplasty in patients with severe unstable angina. *Circulation* 98:2370–2376, 1998.
- Li H, Forstermann U: Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol* 190:244–254, 2000.



SEGUNGO ARTICULO

Título del artículo: “Anti-endotoxin antibodies consumption en cardiovascular collapse: pathophysiological concerns”

Objetivo del estudio: Comparar la cinética de los anticuerpos antiendotoxina en el shock cardiogénico y shock séptico.

Resumen

Objetivo: La actividad anormal de endotoxina se ha descrito en el paciente crítico en ausencia de infección por bacterias Gram negativas (BGN). Se ha decidido evaluar y comparar la exposición a endotoxina en los pacientes en situación de shock séptico (SS) y shock cardiogénico (SC).

Diseño: Estudio prospectivo, observacional sin intervención, en la Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital universitario de tercer nivel.

Pacientes: Pacientes con shock cardiogénico (CS) y shock séptico (SS).

Resultados: Durante los primeros tres días, se analizaron los biomarcadores inflamatorios (proteína C reactiva, procalcitonina e interleuquina-6) y anticuerpos IgM antiendotoxina. 62 fueron incluidos; 25 pacientes con SS y 37 con SC. Se estableció etiología microbiana en 23 pacientes con SS (92%) y BGN en 13 casos (52%). Aunque en 30 pacientes con SC (81%) se sospechó e incluso se trató la infección, finalmente se pudo confirmar. El consumo de anticuerpos fue más intenso en los pacientes con SS, aunque veintidós pacientes con SC (59,5%) tenían un valor de anticuerpos por debajo del percentil 10 para personas sanas. No se detectaron diferencias significativas en la

exposición a endotoxinas entre infecciones Gram-positivas y Gram-negativas en el grupo SS. La capacidad de exposición a endotoxinas para distinguir entre SS y SC fue moderada (AUC 0,7892 95% IC 0,6564- 0,9218).

Conclusión: En el paciente crítico se producen mecanismos que permiten la entrada de endotoxinas y alteran fisiopatología de las enfermedades. Nuestro trabajo muestra de manera representativa cómo la exposición a la endotoxina no fue capaz de distinguir entre SC y SS.



ORIGINAL ARTICLE

Anti-endotoxin antibodies consumption in cardiovascular collapse: Pathophysiological concerns

E. Villarreal^a, P. Ramírez^{a,*}, M. Gordon^a, C. Vicent^a, M.D. Gómez^b, L. de Hevia^a, K. Vacacela^a, R. Alonso^c, J. Vila^d

^a Critical Care Department, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia, Spain

^b Microbiology Department, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia, Spain

^c Laboratory Department, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia, Spain

^d Department of Microbiology, Hospital Clinic, IDIBAPS, School of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain

Received 13 February 2022; accepted 26 April 2022

Available online 4 November 2022

KEYWORDS

Endotoxin;
Septic shock;
Cardiogenic shock;
Pathophysiology;
Gram-negative
bacteria

Abstract

Objective: Abnormal endotoxin activity in critically ill patients has been described in the absence of Gram-negative bacterial (GNB) infection. As disease severity seems to be crucial in the detection of this phenomenon, we decided to assess and compare endotoxin exposure in those patients representing the critical situation: septic shock and cardiogenic shock.

Design: Prospective, observational non intervention study.

Setting: Critical Care Department of a University tertiary hospital.

Patients: Cardiogenic shock (CS) and septic shock (SS) patients.

Interventions: None.

Measurements and main results: Follow-up was performed for the first three days. Inflammatory biomarkers (C-reactive protein, procalcitonin and interleukin-6) and IgM antiendotoxin-core antibodies titter (IgM EndoCab) were daily analyzed. Sixty-two patients were included; twenty-five patients with SS and thirty-seven with CS. Microbial etiology was established in 23 SS patients (92%) and GNB were present in 13 cases (52%). Although infection was suspected and even treated in 30 CS patients (81%), any episode could be finally confirmed.

EndoCab consumption was more intense in SS patients, although twenty-two CS patients (59.5%) had IgM anti-endotoxin value below 10th percentile range for healthy people. No statistically significant difference in endotoxin exposure was detected between Gram-positive and Gram-negative infections in the SS group. Endotoxin exposure ability to distinguish between SS and CS was moderate (AUC 0.7892, 95% IC: 0.6564–0.9218).

Conclusions: In the severely ill patient some mechanisms take place allowing endotoxin incursion and therefore blurring the limits of diseases pathophysiology. Our work representatively shows how exposure to endotoxin was not fully capable of distinguishing between CS and SS.

© 2022 Elsevier España, S.L.U. and SEMICYUC. All rights reserved.

* Corresponding author.

E-mail address: ramirez_pau@gva.es (P. Ramírez).

<https://doi.org/10.1016/j.medine.2022.04.019>

2173-5727/© 2022 Elsevier España, S.L.U. and SEMICYUC. All rights reserved.

PALABRAS CLAVE

Endotoxina;
Shock séptico;
Shock cardiogénico;
Patofisiología;
Bacterias
gramnegativas

Consumo de anticuerpos antiendotoxina en el shock: relación etiológica**Resumen**

Objetivo: En el paciente crítico se ha descrito una actividad incrementada de la endotoxina no asociada a infección por bacterias gramnegativas (BGN). La gravedad de la enfermedad influye en este fenómeno, por ello realizamos este estudio en el paciente crítico por antonomasia: shock séptico y cardiogénico.

Diseño: Estudio prospectivo, observacional, sin intervención.

Lugar de estudio: Unidad de Cuidados Intensivos.

Pacientes: Pacientes en shock cardiogénico (SC) o séptico (SS).

Intervención: Ninguna.

Determinaciones y principales resultados: Seguimiento durante los 3 primeros días. Proteína C reactiva, procalcitonina e interleucina-6, y el título de anticuerpos IgM anti-endotoxina (IgM EndoCAB) se analizaron diariamente. Se incluyó a 62 pacientes; 25 con SS y 37 con SC. La etiología fue identificada en 23 pacientes con SS (92%), los BGN estuvieron presentes en 13 casos (52%). Se sospechó e incluso trató la infección en 30 pacientes con SC, pero en ningún caso se pudo confirmar. El consumo de EndoCAB fue más intenso en los pacientes con SS, pero 22 pacientes con SC (59,5%) tuvieron unos valores por debajo del percentil 10. Los niveles de EndoCAB no fueron significativamente diferentes entre las infecciones por BGN y cocos grampositivos. La capacidad de EndoCAB para diferenciar entre SC y SS resultó ser moderada (AUC 0,7892; IC del 95%, 0,6564-0,9218).

Conclusiones: En el paciente crítico es frecuente que la endotoxina provoque una respuesta inflamatoria y la sumación de distintos mecanismos fisiopatológicos. En este sentido, nuestro trabajo pone de manifiesto que la determinación de exposición a endotoxina no es totalmente capaz de distinguir entre los pacientes con SC y SS.

© 2022 Elsevier España, S.L.U. y SEMICYUC. Todos los derechos reservados.

Introduction

Cardiovascular failure in critically ill patients is mainly due to heart breakdown (cardiogenic shock, CS) or to bacterial sepsis (septic shock, SS). However, the limits between these two etiological and physiopathological entities are often blurred. Myocardial dysfunction caused by the inflammatory response to sepsis is a well-recognized complication and increases notably the difficulty in the management of these patients.¹ On the other hand, CS patients often develop inflammatory signs and symptoms that make clinicians hesitate about the possibility of an infectious complication. In fact; fever, leukocytosis, a decrease in systemic vascular resistances and even an increase in the serum levels of infectious biomarkers are common findings in CS patients.² Bacterial translocation and mainly endotoxemia (bacterial lipopolysaccharid (LPS) presence in blood) has been pointed out by some authors as the possible explanation for this situation.³

LPS is responsible for triggering inflammatory response in Gram-negative bacterial infections.⁴ However, abnormal endotoxin activity has been detected in critically ill patients in absence of bacterial isolation.⁵ An increase in intestinal permeability due to mucosal damage has been identified as the source of endotoxin in chemotherapy mucositis or in severe pancreatitis.⁶ Even more, intestinal hypoperfusion and bacterial translocation was demonstrated in chronic cardiac failure patients and was associated with a worse prognosis.⁷ In CS patients intestinal hypoperfusion can be

aggravated by the use of vasoconstrictive drugs promoting a mucosal disruption and therefore allowing the entry of bacteria or their products.⁸ In fact, our group recently demonstrated endotoxin exposure in CS patients by means of an excessive antiendotoxin antibodies consumption.⁹

Inflammatory response has been previously compared in CS and SS in one study and the detection of elevated procalcitonin (PCT) serum levels in CS patients were theoretically attributed to bacterial translocation.³ In this study we decided to assess inflammatory response and endotoxin exposure (by means of anti-endotoxin antibodies titration) in both CS and SS patients. Our goals were to characterize and compare inflammatory response in both situations and to analyze the relationship with endotoxin exposure and patients prognosis.

Methods**Study design and inclusion criteria**

Prospective observational study performed in a 24-bed medical ICU of a 1200-bed university hospital. We included and followed up all consecutive patients with cardiogenic shock and septic shock from December 2018 to June 2019. During the first three days after shock onset serum samples were collected to analyze inflammatory biomarkers (C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT) and interleukin-6 (IL-6)) and IgM antiendotoxin-core antibodies (IgM EndoCAB). The

Institutional Review Board approved the study and informed consent was obtained from the patients' relatives.

Data collection protocol

The following data were collected on study inclusion: sex, co-morbidities, severity scores prior to intubation (including Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score-II (APACHE-II),¹⁰ Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA)¹¹ and the reason for ICU admission. Clinical, analytical, hemodynamic data and therapeutic measures along ICU stay were recorded. Nosocomial infections were pursued by means of daily evaluation of signs and symptoms and microbiological assessment in case of clinical suspect.

Definitions

Cardiogenic shock: Patients had to fulfill all this criteria: (a) Persistent hypotension (systolic blood pressure < 80–90 mm Hg or mean arterial pressure 30 mm Hg lower than baseline); (b) Severe reduction in cardiac index (<1.8 L min⁻¹ m⁻² without support or <2.0–2.2 L min⁻¹ m⁻² with support) or severe left ventricular systolic dysfunction detected by echocardiography and adequate or elevated filling pressure assessed by pulmonary artery catheterization or by Doppler echocardiography and (c) Tissue hypoperfusion manifested by cool extremities, decreased urine output, and/or alteration in mental status.¹²

Septic shock: SS is defined as a subset of sepsis in which underlying circulatory and cellular metabolism abnormalities are profound enough to substantially increase mortality. Three variables must be identified: hypotension defined as mean arterial pressure less than 65 mmHg, serum lactate level more than 2 mmol/l and a sustained need for vasopressor therapy.¹³

Diagnosis of infection: Infection diagnosis was established according to the CDC criteria. In summary infection diagnosis requires the presence of some clinical criteria followed by a microbiological confirmation.¹⁴ For ventilator-associated pneumonia (VAP) two or more of the following should be present: temperature greater than 38 °C, leukocytosis greater than 12,000/mm³ or leucopenia lower than 4000/mm³, or purulent respiratory secretions; plus a new or progressive pulmonary infiltrate on chest X-ray. VAP confirmation was defined by the quantitative culture of tracheobronchial aspirate $\geq 10^5$ cfu/ml², bronchoalveolar lavage with $\geq 10^4$ cfu/ml or mini bronchoalveolar lavage $\geq 10^3$ cfu/ml.¹⁵

Study of inflammatory markers

Blood samples were centrifuged (1500 rpm, 10 min) and serum was frozen at –80 °C. PCT was measured by TRACE (Time-Resolved Amplified Cryptate Emission) technology in a Kryptor analyzer (Brahms Diagnostica, Berlin, Germany). Measurement of CRP was performed with an immunoturbidimetric method using a commercial kit (Tina-quant CRP, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). IL6 was measured by electrochemiluminescence (ECL) in the Cobas 6000 (E-170), Roche Diagnostics.

Study of antiendotoxin antibodies

Commercially available enzyme-linked immunosorbent assays were used according to the manufacturers' protocols for measuring EndoCAB IgM (Hycult Biotech, The Netherlands). The EndoCAB ELISA was originally devised to screen blood donor plasma for high-titer antibodies to endotoxin core, which are cross-reactive with endotoxins of a number of Gram-negative bacterial species, and was then applied to a variety of clinical studies. The EndoCAB[®] standard median-units IgM (MU) are arbitrary and are based on medians of ranges for 1000 healthy adults; 10–90th percentile range have been established at 35–250 MU/ml and mean normal value at 100 MU/ml.⁵ According to manufactures' instructions the kit has a detection level of 0.05 MU/ml.

Statistical analysis

Quantitative variables were presented as median with p^{25} and p^{75} quartiles. Continuous variables were compared using the Student *t* test for normally distributed variables and the Mann–Whitney *U* test for non-normally distributed variables. Categorical variables were compared using the Chi-square and the Fisher's exact tests when appropriate. The threshold for statistical tests significance was set at 5%. We use ROC curve to determinate the discriminative capacity of antibodies. The collected data were entered and analyzed in SPSS 15.0 software (SPSS, Chicago, IL).

Results

Description of the population

Sixty-two consecutive patients were included in the study; twenty-five patients with SS and thirty-seven with CS. Most of the patients were male (*n* 43; 83%) and mean age was 59.6 [52.5–68] years. APACHE II score was 18 [11–24]. Demographic, clinical, hemodynamic and therapeutic maneuvers from both groups are depicted in Table 1.

In SS population, the most frequent infectious foci were urinary (*n* 8; 32%), abdominal (*n* 8; 32%), respiratory (*n* 6; 24%), soft tissue infection (*n* 2; 8%) and bacteremia (*n* 1; 4%). Microbial etiology was established in 23 patients (92%). Gram-negative bacteria (GNB) in 13 cases (52%); *Escherichia coli* (*n* 6; 46%), *Pseudomonas aeruginosa* (*n* 5; 56.5%) and *Klebsiella pneumoniae* (*n* 2; 15%). Gram-positive bacteria (GPB) in 10 cases (43.4%); *Staphylococcus aureus* (*n* 3; 30%), *Enterococcus faecium* (*n* 3; 30%), *Streptococcus pneumoniae* (*n* 2; 20%), *Staphylococcus epidermidis* (*n* 1; 10%) and *Streptococcus pyogenes* (*n* 1; 10%). Any SS patient developed sepsis-associated myocardial dysfunction.

CS etiology was acute myocardial infarction in 28 cases (75.7%), followed by decompensated chronic heart failure in 8 patients (21.65%) and heart transplant rejection in one patient (2.65%). There was a clinical suspicion of infection and therefore antibiotic treatment onset and performance of microbiological study (blood cultures, respiratory sample culture or/and urine culture) in 30 CS patients (81%). Twenty-two patients (60%) had body temperature > 38.3 °C or < 35 °C; and twenty-three patients (62%) had a leukocyte

Table 1 Demographic and clinical characteristics of SC and SS patients at admission.

	Global (n 62)	Septic shock (n 25)	Cardiogenic shock (n 37)	p
Male n (%)	36 (69%)	16 (64%)	27 (73%)	0.45
Age	59.6 [52.5–68]	65 [54–74.5]	58 [50–64]	0.06
APACHE II	18 [11–24]	24[20–28]	13 [8–17]	0.01
Smoking n (%)	18 (35.5%)	5 (20%)	17 (45.9%)	0.03
Alcohol n (%)	5 (9.7%)	4 (16%)	20 (5.4%)	0.18
Diabetes mellitus n (%)	15 (29%)	7 (28%)	11 (29.7%)	0.83
Hypertension n (%)	20 (38.7%)	11 (44%)	13 (35.1%)	0.53
COPD ^a n (%)	11 (21%)	9 (36%)	4 (10.8%)	0.02
CHF ^b n (%)	8 (21.6%)	0	8 (21.6%)	0.47
Lactate (mmol/l)	3.8 [2.3–6.2]	4.6 [2.4–8.3]	3.5 [2.1–6.2]	0.22
Creatinine (mg/dl)	1.5 [1–2.5]	2 [1.48–2.8]	1.25 [1–2.1]	0.01
Urea (mg/dl)	76.5 [52–111]	106 [58–147]	70 [46–91]	0.09
AST (UI/ml)	146 [51–754]	117 [42–333]	367 [70–937]	0.08
ALT (UI/ml)	96 [43–236]	67[35–166]	107 [50–278]	0.36
Bilirrubine (mg/dl)	1.1 [0.7–2.3]	1.1 [0.6–2.5]	1.1 [0.7–1.95]	0.84

Results are expressed as median with p 25 and p 75.

AMI: Acute myocardial infarction; COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; CHF: Chronic heart failure; CRRT: Continuous renal replacement therapy; ECMO: Extracorporeal membrane oxygenation; IABP: Intra aortic balloon pump; NYHA: New York heart Association.

count > 14,000/mm³ or <4000/mm³. No infection was finally diagnosed.

Supportive interventions are depicted in [Table 2](#).

Inflammatory biomarkers

All patients had serum PCT levels above normal values (0.5 ng/ml). PCT was clearly higher in SS patients meanwhile CRP was indistinguishable between the two groups. In CS 51.4% of the cases (n = 19) had at least one PCT value above 2 ng/ml, and 10 patients (27%) had at least one PCT value above 5 ng/ml. IL-6 was higher but not constantly in SS patients ([Table 3](#)).

Antiendotoxin antibodies

All patients had antiendotoxin antibodies bellow the normal median value (100 MU/ml). EndoCAB consumption was more intense in SS patients ([Table 3](#)), although twenty-two CS patients (59.5%) had IgM anti-endotoxin value bellow 10th percentile range for healthy people ([Table 3](#)). SS patients in whom a GNB was isolated presented less EndoCAB ([Fig. 1](#)) in the three days in which it was determined when compared with SS due to GPB (6.9 MU/ml vs 10.9 MU/ml, 8.5 MU/ml vs 8.7 MU/ml, 6.6 MU/ml vs 8.1 MU/ml), without reaching statistical significance (p = 0.13, p = 0.16 and p = 0.23, respectively).

EndoCAB capability to distinguish between SS and CS patients was evaluated by means of a ROC curve. First day measurement showed an AUC 0.78, 95% IC: 0.65–0.92 ([Fig. 1](#)); the optimal cut-off point was 79.07 MU/ml (sensitivity 52% (44–63%), specificity 94.6% (82–98%)).

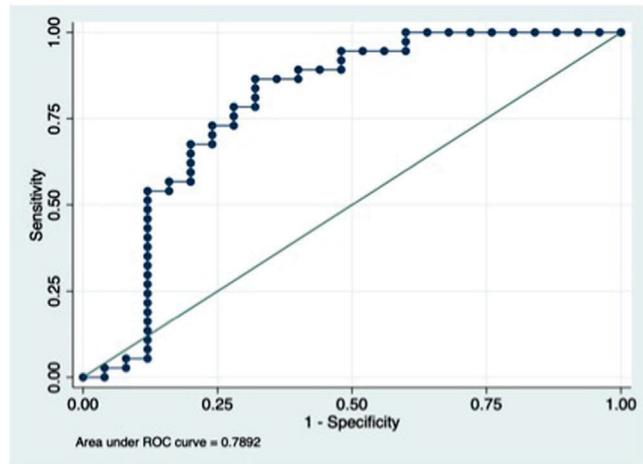


Figure 1 Area under the curve (AUC) for EndoCAB IgM titers in the first day to distinguish between cardiogenic shock and septic shock. 95% IC: 0.65–0.92.

Patient outcomes

Mortality rate was 32.2% (n = 20); six SS patients (24%) and fourteen CS patients (38%) died at 30-days follow-up ([Table 2](#)). Inflammatory biomarkers and EndoCAB levels showed no differences between deceased and survivors. Deceased CS patients had higher PCT and IL6 levels than those CS patients who survived (p < 0.05). Although EndoCAB levels were lower in deceased SS patients they didn't reach statistical significance along the three days follow-up.

Discussion

Our study has been able to demonstrate a universal endotoxin exposure in cardiovascular failure patients

Table 2 Clinical, supportive and outcome parameters in patient follow-up.

	Global (n 62)	Septic shock (n 25)	Cardiogenic shock (n 37)	p
<i>Axilar temperature (°C)</i>				
max	37.8 [37.1–38.2]	37.7[37–38.7]	38 [37.2–38.1]	0.84
min	36 [35–36.4]	35.5[35–36]	36 [35.6–36.5]	0.02
<i>Leukocyte count</i>				
max	17,800 [12,600–25,225]	25,300 [16,400–32,750]	14,800 [10,100–18,400]	0.01
min	8400 [5225–10925]	6400 [3750–9850]	9300 [5700–11200]	0.03
NIMV n (%)	17 (32.3%)	3(12%)	17 (45.9%)	0.01
IMV n (%)	36 (58%)	7 (28%)	29 (78%)	0.768
NE n (%)	43 (82.3%)	24 (96%)	27 (73%)	0.02
Max dose of NE (mcg/kg/min)	1.1 [0.56–1.8]	1.1 [0.51–1.8]	1.09 [0.7–1.8]	0.93
CRRT n (%)	9 (14.5%)	5 (20%)	4 (11%)	0.8
ICU mortality n (%)	20 (38.4%)	6 (24%)	14 (38%)	0.3
Levosimendan n (%)	15 (40%)	0	15 (40%)	0.434
Dobutamine n (%)	33 (89%)	0	33 (89%)	0.563
ECMO n (%)	15 (40%)	0	15 (40%)	0.673
IABP n (%)	17 (46%)	0	17 (46%)	0.635
Heart transplantation n (%)	11 (20%)	0	11(20%)	0.289

Results are expressed as median with p 25 and p 75.

CRRT: Continuous renal replacement therapy; ECMO: Extracorporeal membrane oxygenation; IABP: Intra aortic balloon pump; IMV: Invasive mechanical ventilation; NE: Norepinephrine; NIMV: Non-invasive mechanical ventilation.

Table 3 Antiendotoxin antibodies and inflammatory biomarkers in septic and cardiogenic shock patients.

	Global (n 62)	Septic shock (n 25)	Cardiogenic shock (n 37)	p
EndoCAb (MU/ml) day 1	15.6 [8.5–35.8]	7.8 [3.2–15.2]	23.47 [13–46]	<0.01
EndoCAb (MU/ml) day 2	17.5 [5.5–30.2]	8.5 [3–17.6]	26.1 [16–42.3]	<0.01
EndoCAb (MU/ml) day 3	16.04 [4.5–39.4]	6.8 [2.2–16.9]	27.6 [13–39.6]	<0.01
PCT (ng/ml) day 1	4.8 [0.7–22.5]	24 [8.76–53.8]	1.2 [0.35–5.7]	<0.01
PCT (ng/ml) day 2	4.1 [0.7–23.4]	21.04 [11.9–58.4]	1.87 [0.3–4.6]	<0.01
PCT (ng/ml) day 3	3.8 [1–10.7]	6.1 [4.2–15]	1.78 [0.7–3.]	0.03
PCR (mg/l) day 1	133 [41.5–257.4]	208 [46–315.4]	121.3 [28–238]	0.11
PCR (mg/l) day 2	191 [87.8–274.6]	190.3 [87.6–397.7]	201.5 [88–250]	0.45
PCR (mg/l) day3	147 [85.3–272.4]	117 [61.5–257.4]	149 [111–297]	0.12
IL-6 (pg/ml) day 1	279 [79–1703]	1169 [201–4229]	150 [69–488.5]	0.01
IL-6 (pg/ml) day 2	182 [76–337]	127.4 [41–261]	224 [84.4–408]	0.33
IL-6 (pg/ml) day 3	114 [38.4–229.3]	53.08 [23.5–161]	150 [72–297.4]	<0.01

Results are expressed as median with p 25 and p 75.

independently of its initial etiology. Although IgM EndoCAb consumption was more intense in SS patients, this phenomenon was equal in Gram-negative or Gram-positive infection. Moreover EndoCAb levels were not fully capable of distinguishing between SS and CS patients.

Endotoxin, also known as LPS, is the main membrane component of GNB. It plays as a potent activator of the host innate immune system triggering the biochemical cascade of acute systemic inflammation and causing the sepsis and septic shock syndrome.^{3,4} However, the clinical significance of endotoxin detection in blood as both a diagnostic and a prognostic test has remained unclear, despite over 100 studies published in the last 4 decades. Presumably those studies based in the *Lymulus ameobocyte* lysis assay

(developed for safety controls in the food industry) could have some results compromised by the endotoxin binding to its natural antibodies in the human model.¹⁶ But again, more precise methods to identify endotoxin exposure, such as endotoxin activity assay (EA) or the quantification of endotoxin antibodies, have not been consistent with the microbiological diagnosis of Gram-negative bacterial sepsis.

LPS is not a membrane component for Gram-positive bacteria. However, 70% (n 33) of Gram-positive bacterial sepsis included in the MEDIC study presented with a high or intermediate endotoxin activity.¹⁷ More recently Sekino et al. found high EA levels in one third of a cohort of critically ill patients with septic shock due to Gram-positive bacteria.¹⁸ In our study, endotoxin antibodies consumption was present

in both groups of bacteria, and although endotoxin exposure was higher along the three days follow-up for Gram-negative septic shock, this was statistically non-significant. Bacterial translocation due to enterocyte ischemia in shock patients has been pointed out as the responsible pathogenic mechanism for these findings. Although this is the most reliable explanation, Sekino et al. failed to demonstrate a positive correlation between EA and plasma intestinal acid binding protein (I-FABP; a well-known marker of enterocyte injury).¹⁸ Nevertheless we should pointed out that some authors have detected a lag between these two variables, with the maximum I-FABP peak on ICU admission whereas the level of circulating endotoxin was maximal at day three.¹⁹

Endotoxin exposure has also been demonstrated in cardiovascular collapse without an infectious etiology.⁹ Intestinal mucosa disruption due to ischemia is a known condition in chronic heart failure patients and it has been linked to malabsorption and malnutrition, an inflammatory status and also to a worse prognosis.⁸ Logically it seems right to consider the same intestinal suffering in acute ischemia due to cardiac failure, or GNB septic shock, allowing the intestinal translocation of bacteria or their components, i.e. LPS. This gut involvement is the key piece for the blurring of the limits between entities such as SS and CS or GNB or GPB infection.

Our study has several limitations. Despite our sample size overcomes the number of patients studied in most researches concerning inflammatory biomarkers in shock, a higher number of patients could have allowed us to achieve stronger conclusions. Second, although our hypothetical explanation about LPS exposition in the absence of GNB infection is the existence of intestinal translocation, we did not study any marker of intestinal mucosa damage or dysfunction. Finally we only follow-up our patients for three days and probably the blurring between our studied groups will increase in the following days.

According to our results, and also in line with the MEDIC study findings, LPS pathophysiologic participation in the critically ill patient seems to be beyond GNB infection. Given the expected intestinal mucosa ischemic injury in cardiovascular failure and the high burden of bacteria present in the human intestinal tract, LPS exposition and therefore IgM EndoCAB consumption in these patients seems perfectly reasonable. Understanding the complex pathophysiology of the patient in circulatory collapse and the potential involvement of endotoxin is relevant to optimize the management of these patients, and potentially to apply future therapeutic measures that intervene on the origin or action of endotoxin.

Author's contribution

All authors have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Funding

Authors declare no funding concerning this manuscript.

Conflict of interest

None.

References

- Sanfilippo F, Corredor C, Fletcher N, Landesberg G, Benedetto U, Foex P, et al. Diastolic dysfunction and mortality in septic patients: a review and metanalysis. *Intensive Care Med.* 2015;41:1004–13.
- Picariello C1, Lazzeri C, Chiostrri M, Gensini FG, Valente S. Kinetic of procalcitonin in patients with cardiogenic shock following acute myocardial infarction: preliminary data. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth.* 2010;2:201–7.
- Brunkhorst FM, Clark AL, Forycki ZF, Anker SD. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. *Int J Cardiol.* 1999;72:3–10.
- Opal SM, Glüeck T. Endotoxin as a drug target. *Crit Care Med.* 2003;31 Suppl.:57–64.
- Barclay GR. Endogenous endotoxin-core antibody (EndoCAB) as a marker of endotoxin exposure and prognostic indicator: a review. *Prog Clin Biol Res.* 1995;392:263–72.
- Curley PJ, McMahon MJ, Lancaster F, Banks RE, Barclay GR, Shefta J, et al. Reduction in circulating levels of CD4-positive lymphocytes in acute pancreatitis: relationship to endotoxin, interleukin 6 and disease severity. *Br J Surg.* 1993;80:1312–5.
- Krack A, Sharma R, Figulla HR, Anker SD. The importance of the gastrointestinal system in the pathogenesis of heart failure. *Eur Heart J.* 2005;26:2368–74.
- Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, Watson A, Valentova M, Hermann R, et al. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64:1092–102.
- Ramírez P, Villarreal E, Gordon M, Gómez MD, De Hevia L, Vacacela K, et al. Septic participation in cardiogenic shock: exposure to bacterial endotoxin. *Shock.* 2017;47:588–92.
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP. APACHE II: a severity o disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13:818.
- Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willats A, Mendoca A, Bruining H, et al. The SOFA (sepsis-related organ failure assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group of Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996;22:707–10.
- Hochman JS, Sleeper LA, Webb JG, Sanborn TA, White HD, Talley JD, et al. Early revascularization in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *N Engl J Med.* 1999;341:625–34.
- Singer M, Deutschman CS, Warren Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock. *JAMA.* 2016;315:801–10.
- Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008;36:1105–13.
- Papazian L, Thomas P, Garbe L, Guignon I, Thirion X, Charrel J, et al. Bronchoscopic or blind sampling techniques for the diagnosis of ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152 Pt 1:1982–91.

16. Hurley CH, Nowak P, Öhrmalm L, Charalambos G, Apostolos A, Evangelos J, et al. Endotoxemia as a diagnostic tool for patients with suspected bacteremia caused by Gram-negative organisms: a meta-analysis of 4 decades of studies. *J Clin Microbiol.* 2015;53:1183–91.
17. Marshall J, Foster D, Vincent JL, Cook D, Cohen J, Dellinger R, et al. Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study. *J Infect Dis.* 2004;190:527–34.
18. Sekino M, Funaoka H, Sato S, Egashira T, Inoue H, Yano R, et al. Association between endotoxemia and enterocyte injury and clinical course in patient with gram-positive septic shock. *Medicine (Baltimore).* 2019;98:e16452.
19. Grimaldi D, Guivarch E, Neveux N, Fichet J, Pène F, Marx J-D, et al. Markers of intestinal injury are associated with endotoxemia in successfully resuscitated patients. *Resuscitation.* 2013;84:60–5.

V. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

El pensamiento natural nos induce a intentar compartimentalizar los mecanismos de enfermar. De este modo, el efecto de las bacterias y sus toxinas y la respuesta inflamatoria del huésped explicarían los signos y síntomas del paciente séptico, y de igual modo el fallo del corazón como bomba impulsora explicaría las manifestaciones del shock cardiogénico. Sin embargo, la respuesta inflamatoria en la sepsis puede provocar la disfunción de otros órganos incluido el propio corazón, la disfunción cardíaca en este caso supondría la fusión fisiopatológica de las dos entidades. A la luz de nuestros resultados esta posibilidad también existe cuando el insulto original reside en el fallo cardíaco. En este caso la participación bacteriana estaría mediada por la exposición a la endotoxina demostrada por la cuantificación del título de anticuerpos frente a la misma. La demostración y cuantificación de este fenómeno debería inducir un cambio en la aproximación y manejo de estos pacientes.

La insuficiencia cardíaca como síndrome, y el shock cardiogénico como máxima expresión de dicho síndrome, hace tiempo que dejó de ser considerado un mero problema mecánico debido a la disfunción cardíaca (46). Aunque el fallo de la bomba es el insulto principal en la mayoría de las formas de SC, existen investigaciones que han sugerido que el sistema vascular periférico, los sistemas neurohormonales y las citocinas desempeñan un papel fundamental en la patogénesis y persistencia del SC.

La vasoconstricción sistémica inicial se desencadena como mecanismo reflejo tras una depresión del gasto cardíaco presente en el SC, lo que se traduce en un aumento de la resistencia vascular sistémica (RVS). Este fenómeno, no está

completamente presente en todos los pacientes en SC, es más, es común encontrar un fenotipo hemodinámico análogo al shock séptico.

Existen estudios que ponen de manifiesto, la presencia de RVS bajas similares a las que encontramos en el shock séptico, que se explican en el contexto de un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) inesperado (47). Los mediadores inflamatorios se han relacionado con esta respuesta y también se ha descrito que otros factores circulantes como el complemento, la procalcitonina, la neopterinina o proteína C reactiva, contribuyen al SRIS en el SC (16,17). La acción del óxido nítrico (NO) parece ser una característica crucial en este evento. El NO es fisiológicamente importante en la homeostasis vascular manteniendo el tono muscular de los vasos sanguíneos bajo, lo que produce vasodilatación, además es capaz de producir depresión miocárdica e interferencia con la acción de las catecolaminas (48).

En el ámbito clínico, la presencia de signos de SIRS en el SC implica la búsqueda activa de una complicación infecciosa asociada a esta patología. De especial interés, tiene el ensayo SHOCK, en el que se incluyeron 300 pacientes en SC y se dividieron dos poblaciones: una con signos de inflamación sistémica grave que llevaron al diagnóstico de sospecha de sepsis y en los que se tomaron un par de hemocultivos (n 54) y otra sin signos de infección subyacente (n 203). A su vez, subdividieron la primera población en pacientes con cultivos positivos y cultivos negativos. Se diagnosticó infección en el 18% de los casos con SC, una de las limitaciones de este estudio es que los autores no usaron ninguna prueba diagnóstica estandarizada para el diagnóstico de sepsis y se desconocía el posible foco de infección (47). En un estudio prospectivo observacional

realizado en EEUU durante 15 años, observaron que un 6% de los pacientes en SC desarrollaban sepsis y este hallazgo se asociaba a un aumento de la tasa de fracaso multiorgánico, paro cardíaco y mayor mortalidad. Cabe destacar que el diagnóstico de sepsis en este estudio se realizó con criterios no estandarizados y sin foco ni hallazgos microbiológicos identificables (49).

Brunkhost et al ofrecieron información más detallada en su serie de 29 pacientes con SC. Encontraron temperatura elevada ($>38,3^{\circ}\text{C}$) en casi todos los casos (90%) asociada a un aumento de la PCT sérica y sin evidencia de infección documentada microbiológicamente (17). Este autor planteó la posibilidad de que sus pacientes hubieran sufrido el efecto de un inóculo de endotoxinas del tracto intestinal secundario a la congestión de la pared intestinal o a la propia isquemia del bajo gasto cardíaco.

Esta hipótesis tiene una base sólida dada la evidencia acumulada de la participación intestinal en la patogenia de la insuficiencia cardíaca crónica (ICC) (50). Se ha demostrado que los pacientes con ICC tienen un aumento del grosor de la pared intestinal, lo que sugiere edema de la misma y, por tanto, disfunción de la barrera intestinal que se traduce en un aumento de hasta el 35 % de la permeabilidad del intestino delgado (relación lactulosa/manitol), aumento del 210 % de la permeabilidad del intestino grueso (excreción de sucralosa) y una disminución del 29 % de D- absorción de xilosa. El origen de estas alteraciones en la insuficiencia cardíaca crónica, es una reducción del 30% al 43% del flujo sanguíneo sistólico medio en las arterias mesentéricas superior e inferior y tronco celíaco. En pacientes con menor flujo sanguíneo intestinal se ha de-

tectado un crecimiento de bacterias yuxtamucosas y una mayor concentración de anticuerpos antiendotoxina IgA en suero sistémico. (51).

En el caso de la insuficiencia cardiaca aguda, se han detectado niveles elevados de endotoxina en las venas hepáticas en comparación con el ventrículo izquierdo, lo que respaldan la teoría de una translocación bacteriana desde el intestino a la circulación sistémica. (52). Si tenemos en cuenta, que la endotoxina es capaz de activar a la “óxido nítrico sintetasa inducible” que provoca disfunción vascular y además tiene efectos nocivos para el miocardio, esta variable agravaría la evolución tanto en la insuficiencia cardiaca crónica como aguda (48).

En el paciente crítico, el biomarcador de disfunción de la barrera intestinal que está más documentado en la bibliografía es la proteína transportadora de ácidos grasos intestinales (PTAG-I), que es una proteína altamente órgano específica que se emplea como marcador de sufrimiento de los enterocitos en la hipoxia e hipoperfusión. Esta proteína ha sido estudiada durante la ICA y el SC. Kastl et al, observaron que en ambas patologías existen mayor concentración de PTAG-I en suero, lo que sugería una hipoperfusión esplácnica (53).

Parece lógico que la isquemia intestinal secundaria a un fallo hemodinámico degenera en una alteración de la permeabilidad intestinal y, por tanto, vaya acompañada también de la entrada de bacterias o de sus productos. Esta es la primera vez que se ha estudiado de manera sistemática la endotoxina en los estadios iniciales del SC. Hemos evaluado la respuesta inflamatoria y la presencia de endotoxina en pacientes con SC mediante el título sérico de los AcAE IgM, que ya se había aplicado previamente

en otras patologías en las que la endotoxemia juega un papel como la sepsis o la pancreatitis aguda.

Nuestro estudio ha demostrado un trastorno del equilibrio de la endotoxina en el SC, fenómeno que podría ser el desencadenante de los signos y síntomas de SIRS presentes en esta patología. El 60% de los pacientes presentaron fiebre o leucocitosis y a pesar de realizarse un estudio microbiológico en el 80% de ellos, la búsqueda de infección fue infructuosa. Por tanto, la depleción de anticuerpos antiendotoxina sería el resultado de su consumo debido a la exposición a la endotoxina probablemente proveniente de la translocación intestinal. No pudimos encontrar una asociación entre el pronóstico del paciente y AcAE IgM, pero sí entre el resto de biomarcadores inflamatorios (PCT e IL6) y la mortalidad. Esto podría deberse a los valores extremadamente bajos de AcAE IgM en nuestra serie, lo que podría haber hecho necesario un tamaño de muestra mayor para detectar una relación.

Otro pensamiento natural sería el relacionar el LPS exclusivamente con las BGN. El LPS no es un componente de membrana en las bacterias Gram-positivas. Sin embargo, en el estudio MEDIC se observó que la endotoxemia también estaba presente en la sepsis por bacterias Gram positivas y que la prevalencia de infección por estas bacterias aumentaba significativamente con niveles intermedios de AE. (47). Más recientemente, Sekino et al encontraron niveles altos de AE en un tercio de una cohorte de pacientes críticos con shock séptico debido a bacterias Gram-positivas en el momento de ingreso en UCI (51).

En nuestro estudio, el consumo de los anticuerpos contra endotoxinas estuvo presente tanto en las infecciones por BGN como en las infecciones causadas por bacterias Gram positivas. Aunque la exposición a la endotoxina fue mayor durante los tres días de seguimiento para el shock séptico producido por BGN, no alcanzó diferencias estadísticamente significativas. La traslocación bacteriana debida a isquemia de enterocitos en pacientes con shock séptico ha sido señalada como el mecanismo patogénico responsable de estos hallazgos. Aunque esta es la explicación más lógica, Sekino et al no lograron demostrar una correlación positiva entre la EA y la PTAG-I; un marcador bien conocido de lesión de enterocitos (51). Sin embargo, debemos señalar que algunos autores han detectado un desfase entre estas dos variables analíticas, con el pico máximo de PTAG-I al ingreso en la UCI, mientras que el nivel de endotoxina circulante fue máximo en el día tres de evolución (54).

El estudio de la endotoxemia en el paciente crítico sólo estaría justificado si existieran medidas terapéuticas encaminadas a modular o eliminar su presencia patogénica. En la última década, se han realizado notables esfuerzos en la investigación para avanzar en este sentido. Aunque no existe una indicación clara en la literatura, se han desarrollado varias estrategias terapéuticas para contrarrestar las consecuencias de la endotoxemia.

El abordaje más natural sería la modulación de la microbiota intestinal para corregir la habitual disbiosis del paciente crítico. La administración de prebióticos o probióticos, la realización de un trasplante fecal o el uso de descontaminación digestiva selectiva, podrían reducir o modular la carga bacteriana intestinal y disminuir

así la cuantía de endotoxina intraluminal (55). Estas medidas han tenido resultados controvertidos, por lo que de momento no se puede realizar una indicación firme (56,57). La nutrición enteral podría ser una medida interesante, ya que potencialmente podría prevenir la endotoxemia al promover la integridad de la barrera intestinal. En el ensayo NUTRIREA-2 observaron que la concentración plasmática de citrulina (marcador de masa de enterocitos) era mayor en los pacientes críticos en shock que habían estado recibiendo nutrición enteral los tres primeros días de evolución con respecto a aquellos que estuvieron nutridos vía parenteral. (58).

Los dispositivos de adsorción extracorpórea de endotoxina se han desarrollado en los últimos años, con resultados prometedores. Las membranas a través de interacción de carga adsorben el LPS. La más estudiada ha sido la membrana de polimixina. La polimixina B pertenece a un grupo de antibióticos polipeptídicos catiónicos cíclicos. Presenta actividad antimicrobiana contra bacterias gramnegativas, pero debido a sus efectos tóxicos su uso asistencial está muy limitado. Dado que tiene la capacidad de unirse a endotoxinas y neutralizarlas, se ha explorado la posibilidad de utilizar polimixina unida a un vehículo en fase sólida para la hemo adsorción específica en pacientes con sepsis, conservando así las propiedades de unión a lipopolisacáridos, pero minimizando los efectos tóxicos sistémicos (59). In vitro, ha demostrado reducir la carga de endotoxina, pero en ensayos controlados aleatorios en una población con elevadas concentraciones de LPS no logró mejorar los resultados clínicos (60).

En el ensayo EUPHRATES (controlado aleatorio y doble ciego), se incluyeron 450 pacientes en estado crítico en shock séptico. En este estudio se incluyeron

pacientes en los que previamente se había detectado AE elevada ya los que dicha actividad era monitorizada durante el tratamiento. Entre estos pacientes, el tratamiento de hemoperfusión con polimixina B frente al tratamiento médico convencional no redujo la mortalidad a los 28 días. (60)

También existen membranas de acrilonitrilo y metanosulfonato capaces de adsorber LPS, pero no se dispone de grandes ensayos clínicos que respalden su beneficio en el paciente crítico. Broman et al, realizaron un estudio con este tipo de membranas en 16 enfermos críticos en SS con fracaso renal agudo e hicieron hasta cinco determinaciones de endotoxina (AE) y citoquinas, en las primeras 24 horas. Se observó una reducción de las variables medidas, que se acompañaba de una mejoría hemodinámica, lactacidemia y necesidad de soporte vasoactivo (61). Sin embargo, aquellos estudios con mayor tamaño muestral han tenido resultados controvertidos, lo que ha motivado su empleo en esta patología no se haya establecido de manera rutinaria. El ensayo clínico ROMPA, que buscaba demostrar una reducción de la mortalidad en el shock séptico por la adsorción de plasma, fue interrumpido prematuramente al no encontrar diferencias entre el grupo control (sin terapia) y el grupo de intervención. (62). Otro ensayo clínico multicéntrico aleatorizado en el que se incluyeron 115 pacientes críticos en shock séptico y en el que se evaluaba la eficacia y seguridad de dosis altas de filtración-adsorción de plasma, fue detenido de manera abrupta por tener probables efectos nocivos principalmente en las primeras fases del shock séptico (63).

Mediante estas técnicas no sólo se eliminan endotoxinas también desaparecen

del plasma citocinas cuyo papel frente al microorganismo en la sepsis podría ser beneficioso para el paciente. Aunque la tecnología ha evolucionado significativamente en las últimas décadas y los cartuchos actuales de hemoperfusión parece que se pueden emplear de manera segura, no se dispone de evidencia científica suficiente para recomendar su uso asistencial. Seguramente, es necesario investigar y desarrollar un perfil específico de paciente así como una ventana temporal terapéutica que permitan asegurar la eficacia de estas técnicas.

A diferencia de la sepsis, en el SC nos encontraríamos en un escenario fisiopatológico distinto. El grado de endotoxemia sería probablemente menor que en el caso de shock séptico y el perfil de citoquinas circulante sería diferente al del paciente infectado. Y, lo que probablemente es más importante, no existe una noxa infecciosa con capacidad reproductora de la que el paciente deba defenderse y para lo cual requiera de la acción de la respuesta inflamatoria. Actualmente, Andrei S et al están comparando en el estudio ECMORIX el tratamiento con la membrana Oxiris y las técnicas de reemplazo renal continua estándares en pacientes en SC con soporte circulatorio con membrana de oxigenación extracorpórea (ECMO). De momento no se disponen de los resultados preliminares, pero la hipótesis de partida es un posible beneficio clínico derivado de la adsorción de endotoxina (64).

Por otro lado, la principal vía endógena de eliminación de endotoxina es el transporte inverso de LPS. Esta vía implica la transferencia de LPS a través de la proteína de transferencia de fosfolípidos (PTF) a lipoproteínas capaces de neutralizar el LPS y promover su eliminación a través de la ruta hepatobiliar. Es decir, debido a la

vascularización intestinal la endotoxina sufre una primera eliminación hepática antes de llegar al compartimento sistémico. Por tanto, otra de las líneas de investigación actuales, está centrada en optimizar esta vía de eliminación, como futura herramienta terapéutica.

In vitro, la lipoproteína de alta densidad (HDL) neutraliza la actividad del LPS. En ocho voluntarios sanos se realizó un estudio doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo, en los que se determinó el efecto de la HDL tras la administración de endotoxina. Clínicamente, se observó que redujo ciertos síntomas, pero no la respuesta febril y redujo la liberación de ciertas citocinas inducidas por la endotoxina como el TNF, IL-6 e IL-8 y de manera discreta atenuó la secreción de inhibidores de citocinas proinflamatorias IL-1ra, receptores solubles de TNF e IL-10. Además, en el artículo se destaca que la infusión de HDL, antes de la administración de LPS, se asoció con una regulación negativa de CD14, el principal receptor de LPS, en los monocitos, lo que se traduce en una producción de TNF disminuida. Estos resultados sugieren que HDL puede inhibir los efectos del LPS en humanos in vivo no solo uniéndose y neutralizando el LPS sino también reduciendo la expresión de CD14 en los monocitos (65).

Estos resultados son prometedores, pero estas estrategias están por validar en el ser humano y requieren de mayores avances científicos ya que el metabolismo de las lipoproteínas y la actividad de transferencia de lípidos se modifican en la enfermedad crítica, este campo requiere que se realicen futuros proyectos de investigación para clarificarlo (65).

En general, todas estas terapias son muy prometedoras. Pero debido a la complejidad de la endotoxemia, el equilibrio pro y antiinflamatoria en el paciente crítico y que la respuesta inmune a la agresión es muy variable entre individuos, es necesario realizar mayores estudios para determinar el fenotipo inmune de cada paciente y así poder beneficiarse de las distintas terapias dirigidas. Además, se requiere de mayor conocimiento fisiopatológico sobre el mecanismo de traslocación de LPS en el intestino dañado. Se han de identificar mejor los mecanismos protectores de la barrera epitelial, de esta manera, estos posibles avances permitirán el desarrollo de estrategias terapéuticas focalizadas a reducir la traslocación en un estadio inicial de la patología.

Según nuestros resultados, y también en línea con los hallazgos del estudio MEDIC, la participación fisiopatológica de la endotoxina en el paciente crítico parece que va más allá de la infección por BGN. La lesión isquémica de la mucosa intestinal esperada en la insuficiencia cardiovascular que se observa tanto en shock séptico como cardiogénico, podría facilitar que se produzca una traslocación bacteriana. Además, en el paciente crítico se dan varias circunstancias que provocan que aumente la carga bacteriana en el tracto gastrointestinal. Esta exposición a LPS podría provocar un consumo de AcAE IgM en estos pacientes. Aunque en las últimas décadas se han dado grandes pasos que han puesto de manifiesto la importancia del papel de la endotoxina en el paciente crítico, aún quedan por determinar de una manera más detallada la fisiopatología de este fenómeno, lo que nos permitirá el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas.

Limitaciones del estudio

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. A pesar de que el tamaño de nuestra muestra supera el número de pacientes estudiados en la mayoría de las investigaciones en el paciente crítico sobre biomarcadores inflamatorios en estado de shock, un mayor número de pacientes podría habernos permitido llegar a establecer conclusiones más sólidas. Nuestro seguimiento a los pacientes solamente fue durante los primeros tres días después del inicio del SC; hubiera sido de gran interés realizar un seguimiento de los AcAE en los días posteriores y así, analizar su relación con el pronóstico del SC. Aunque nuestra explicación hipotética sobre la exposición a la endotoxina en ausencia de infección por Gram negativos es la existencia de translocación intestinal, no estudiamos ningún marcador de daño o disfunción de la mucosa intestinal, lo que nos impide asegurar la existencia de fenómenos de traslocación en nuestros pacientes.

Finalmente, analizamos anticuerpos antiendotoxina en lugar de la actividad de la endotoxina, cuyo uso está más extendido en la literatura. Dado que todos los métodos de análisis de exposición a la endotoxina tienen sus defectos, sería recomendable las iniciativas futuras incluyeran una estrategia dual (endotoxina y sus anticuerpos).

VI. CONCLUSIONES

- 1.- En el paciente con shock séptico existe una exposición a la endotoxina identificable por el consumo de los anticuerpos antiendotoxina.
- 2.- En el paciente en shock cardiogénico, en ausencia de infección documentada, existe una exposición a la endotoxina identificable por el consumo de los anticuerpos antiendotoxina.
- 3.- La intensidad de la exposición y el consumo de los anticuerpos antiendotoxina tuvo un mayor rango en los pacientes con shock séptico.
- 4.- La determinación de los anticuerpos antiendotoxina no tuvo capacidad discriminatoria entre el shock séptico y shock cardiogénico.
- 5.- La intensidad de la exposición y el consumo de los anticuerpos antiendotoxina tuvo un mayor rango en los pacientes con shock séptico producido por bacterias Gram-negativas en comparación shock séptico producido por bacterias Gram-positivas.
- 6.- La determinación de los AcAE no tuvo capacidad discriminatoria entre el shock séptico por bacterias Gram-negativas y bacterias Gram-positivas.
- 7.- Los anticuerpos antiendotoxina se asociaron con la mortalidad en el shock cardiogénico.
- 8.- Los anticuerpos antiendotoxina se asociaron con la mortalidad en el shock séptico.

VII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med.* 2021; 47(11):1181-1247.
- 2.- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29(7):1303-10.
- 3.- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-10.
- 4.-Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. 2. Introducción a la microbiología. 9ª edición. Ed. China. Médica Panamericana. 2013.
- 5.- Ramachandran G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis: a brief review. *Virulence.* 2014 Jan ;5(1):213-8.
- 6.- Sheehan JR, Sadlier C, O'Brien B. Bacterial endotoxins and exotoxins in intensive care medicine. *BJA Educ.* 2022 Jun;22(6):224-230.
- 7.- Morris WE, Fernández-Miyakawa ME. Toxins of *Clostridium perfringens*. *Rev Argent Microbiol.* 2009;41(4):251-60.
- 8.- Méndez YR, Barrera MC. Fisiopatología de la sepsis por bacterias gram negativas: bases moleculares. *Cuarzo.* 2015; 21 (2): 88-103.
- 9.- Ponikowski P, Jankowska E. Pathogenesis and Clinical Presentation of Acute Heart Failure. *Rev Esp Cardiol.* 2015; 68 (4):331-7.

- 10.- Van Diepen S, Katz JN, Albert NM, Henry TD, Jacobs AK, Kapur NK et al. Contemporary management of cardiogenic shock: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;136: 232–268.
- 11.- Vahdatpour C, Collins D, Goldberg S. Cardiogenic Shock. *J Am Heart Assoc*. 2019;8(8):1-12.
- 12.- Harjola V-P, Lassus J, Sionis A, Kober L, Tarvasmäki T, Spinar J, et al. Clinical picture and risk prediction of short-term mortality in cardiogenic shock: clinical picture and outcome of cardiogenic shock. *Eur J Heart Fail*. 2015; 17:501–9.
- 13.- Samsky MD, Morrow DA, Proudfoot AG, Hochman JS, Thiele H, Rao SV. Cardiogenic Shock After Acute Myocardial Infarction: A Review. *JAMA*. 2021;326(18):1840-50.
- 14.- Yuzefpolskaya M, Bohn B, Nasiri M, Zuver AM, Onat DD, Royzman EA et al. Gut microbiota, endotoxemia, inflammation, and oxidative stress in patients with heart failure, left ventricular assist device, and transplant. *J Heart Lung Transplant*. 2020;39(9):880-890.
- 15.- Nguyen M, Gautier T, Masson D, Bouhemad B, Guinot PG. Endotoxemia in Acute Heart Failure and Cardiogenic Shock: Evidence, Mechanisms and Therapeutic Options. *J Clin Med*. 2023;12(7):2579.
- 16.- Picariello C1, Lazzeri C, Chiostrì M et al. Kinetic of procalcitonin in patients with cardiogenic shock following acute myocardial infarction: preliminary data. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*. 2010;2(3):201-7.

- 17.-Brunkhorst FM, Clark AL, Forycki ZF et al. Pyrexia, procalcitonin, immune activation and survival in cardiogenic shock: the potential importance of bacterial translocation. *Int J Cardiol.* 1999;72(1):3-10.
- 18.- Steve M, Opal SM, Thomas Glück. Endotoxin as a drug target. *Crit Care Med* 2003; 31 (1): 57-64.
- 19.- Raetz CR, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu Rev Biochem.* 2002; 71:635-700.
- 20.- Huang Q, Liu D, Majewski P. The plasticity of dendritic cell responses to pathogens and their components. *Science.* 2001; 294: 870–5.
- 21.- Van Deventer JH, Buller HR, Tencate JW, Endotoxemia: an early predictor of septicaemia in febrile patients. *Lancet.* 1988; 1: 605-8.
- 22.- Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM. Endotoxemia in human septic shock. *Chest* 1991; 99: 169–175.
- 23.- Opal SM, Scannon PJ, Vincent JL, White M, Carroll SF, Palardy JE et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. *J Infect Dis.* 1999;180(5):1584-9.
- 24.- Levin J, Bang FB. Clottable protein in Limulus; its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin. *Trombo Diath Hemorra.* 1968; 16: 186–197.
- 25.-Hurley JC. Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(2):268-92.

- 26.- Cohen J. The detection and interpretation of endotoxemia. *Intensive Care Med.* 2000; 26 (1): 51-6.
- 27.- Romaschin AD, Harris DM, Ribeiro MB, Paice J, Foster DM, Walker PM et al. A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence. *J Immunol Methods.* 1998;212(2):169-85.
- 28.- Su W, Ding X. Methods of Endotoxin Detection. *J Lab Autom.* 2015 ;20(4):354-64.
- 29.- Romaschin AD, Klein DJ, Marshall JC. Bench-to-bedside review: Clinical experience with the endotoxin activity assay. *Crit Care.* 2012;16(6):248.
- 30.- Charbonney E, Tsang JY, Li Y, Klein D, Duque P, Romaschin A et al. Endotoxemia Following Multiple Trauma: Risk Factors and Prognostic Implications. *Crit Care Med.* 2016;44(2):335-41.
31. Ikeda T, Ikeda K, Suda S, Ueno T. Usefulness of the endotoxin activity assay as a biomarker to assess the severity of endotoxemia in critically ill patients. *Innate Immun.* 2014;20(8):881-7.
- 32.- Marshall JC, Foster D, Vincent JL, Cook DJ, Cohen J, Dellinger RP et al. MEDIC study. Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study. *J Infect Dis.* 2004;190(3):527-34.
- 33.- Barclay GR. Endogenous endotoxin-core antibody (EndoCAb) as a marker of endotoxin exposure and a prognostic indicator: a review. *Prog Clin Biol Res.* 1995; 392:263-72.

- 34.- Takala, J. Determinants of splanchnic blood Flow. *British Journal of Anaesthesia* 1997; 77: 50–8.
- 35.- Krack A, Sharma R, Figulla H, Anker S. The importance of the gastrointestinal system in the pathogenesis of heart failure. *European Heart Journal*. 2005; 26: 2368-74.
- 36.- Niebauer J; Volk HD; Kemp M; Dominguez M. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: A prospective cohort study. *The Lancet*. 1999; 353: 9167.
- 37.- Sandek A, Swidsinski A, Schroedl W, Watson A, Valentova M, Herrmann R et al. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 64:1092-102.
- 38.- Peschela T, Scho“nauera M, Thielea H, Ankerb S, Schulera G, Niebauera J. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2003; 5: 609–14.
- 39.- Picariello C, Lazzeri C, Chiostrì M. Kinetic of procalcitonin in patients with cardiogenic shock following acute myocardial infarction. *HSR Proc Intensive Care Cardiovasc Anesth*. 2010;2(3):201-7
- 40.- Charbonney E, Tsang JY, Li Y, Klein D, Duque P, Romaschin A et al. Endotoxemia Following Multiple Trauma: Risk Factors and Prognostic Implications. *Crit Care Med*. 2016;44(2):335-41.
- 41.- He W, Wang Y, Wang P, Wang F. Intestinal barrier dysfunction in severe burn injury. *Burns Trauma*. 2019; 7: 24.

- 42.- Anaya-Ayala JE, Porres-Aguilar M, Mora-Loya CA, Porres-Muñoz M. Pancreatitis aguda grave: implicaciones en su pronóstico y manejo [Severe acute pancreatitis: prognosis and treatment implications]. *Rev Gastroenterol Mex.* 2008;73(1):40-6.
- 43.- De Beaux AC, Fearon KC. Circulating endotoxin, tumour necrosis factor-alpha, and their natural antagonists in the pathophysiology of acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1996;219:43-6.
- 44.- Hilmi I, Kellum JA, Planinsic R, Foster D, Abdullah A, Damian D et al. Endotoxemia is common after abdominal organ transplantation and is associated with reperfusion and rejection. *J Organ dysfunction.* 2009; 16: 254–260.
- 45.- Klein DJ, Briet F, Nisenbaum R, Romaschin AD, Mazer CD. Endotoxemia related to cardiopulmonary bypass is associated with increased risk of infection after cardiac surgery: a prospective observational study. *Crit Care.* 2011;15(1):1-6.
- 46.- Reynolds HR, Hochman JS. Cardiogenic Shock Current Concepts and Improving Outcomes. *Circulation.* 2008; 117:686-697.
- 47.- Kohsaka S, Menon V, Lowe AM, Lange M, Dzavik V, Sleeper LA, et al. SHOCK Investigators. Systemic Inflammatory Response Syndrome After Acute Myocardial Infarction Complicated by Cardiogenic Shock. *Arch Intern Med.* 2005; 165:1643-50.
- 48.- Li H, Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol.* 2000; 190:244-254.
- 49.- Jentzer JC, Bhat AG, Patlolla SH, Sinha SS, Miller PE, Lawler PR et al. Concomitant Sepsis Diagnoses in Acute Myocardial Infarction-Cardiogenic Shock: 15-Year National Temporal Trends, Management, and Outcomes. *Crit Care Explor.* 2022 Feb 4;4(2) 1-12.

- 50.- Elizabeth J. Ziegler, Charles J. Fisher, Jr, Charles L. Sprung et al. Treatment of Gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group. *N Engl J Med.*1991; 324:429–436
- 51.- Sekino M, Funaoka H, Sato S, Egashira T, Inoue H, Yano R et al. Association between endotoxemia and enterocyte injury and clinical course in patient with gram-positive septic shock. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98(28): 1-7
- 52.- Peschel T, Schönauer M, Thiele H, Anker SD, Schuler G, Niebauer J. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2003 Oct;5(5):609-14.
- 53.- Kastl SP, Krychtiuk KA, Lenz M, Distelmaier K, Goliash G, Huber K et al. Intestinal Fatty Acid Binding Protein is Associated with mortality in patients with acute heart failure or cardiogenic shock. *Shock.* 2019 Apr;51(4):410-15.
- 54.- Grimaldi D, Guivarch E, Neveux N, Fichet J, Pène F, Marx JS et al. Markers of intestinal injury are associated with endotoxemia in successfully resuscitated patients. *Resuscitation* 2013; 84: 60-5.
- 55.- Bassetti M, Bandera A, Gori A. Therapeutic potential of the gut microbiota in the management of Sepsis. *Crit. Care.* 2020; 24:1–7.
- 56.- Awoyemi A, Mayerhofer C, Felix A.S, Hov J.R, Moscovitch S.D, Lappegård K.T et al. Rifaximin or *Saccharomyces boulardii* in heart failure with reduced ejection fraction: Results from the randomized GutHeart trial. *EBioMedicine.* 2021; 70:1-9.
- 57.- Bouter H, Schippers E.F, Luelmo S.A.C, Versteegh M.I.M, Ros P, Guiot H.F.L, et al. No effect of preoperative selective gut decontamination on endotoxemia and cytokine

activation during cardiopulmonary bypass: A randomized, placebo-controlled study. *Crit. Care Med.* 2002; 30:38–43.

58.- Piton G, Le Gouge A, Brulé N, Cypriani B, Lacherade J.C, Nseir S, et al. Impact of the route of nutrition on gut mucosa in ventilated adults with shock: An ancillary of the NUTRIREA-2 trial. *Intensive Care Med.* 2019;45:948–56.

59.- Davies B, Cohen J. Endotoxin removal devices for the treatment of sepsis and septic shock. *Lancet Infect Dis.* 2011 Jan;11(1):65-71.

60.-, Dellinger RP, Bagshaw SM, Antonelli M, Foster DM, Klein DJ, Marshall JC, et al. EUPHRATES Trial Investigators. Effect of Targeted Polymyxin B Hemoperfusion on 28-Day Mortality in Patients With Septic Shock and Elevated Endotoxin Level: The EUPHRATES Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2018;320(14):1455-63.

61.-. Broman M.E., Hansson F., Vincent J.-L., Bodelsson M. Endotoxin and cytokine reducing properties of the oXiris membrane in patients with septic shock: A randomized crossover double-blind study. *PLoS ONE.* 2019;14.

62.- Giménez-Esparza C, Portillo-Requena C, Colomina-Climent F, Allegue-Gallego JM, Galindo-Martínez M, Mollà-Jiménez C et al. The premature closure of ROMPA clinical trial: mortality reduction in septic shock by plasma adsorption. *BMJ Open.* 2019 Dec 3;9(12).

63.- Ala-Kokko TI, Laurila J, Koskenkari J. A new endotoxin adsorber in septic shock: observational case series. *Blood Purif.* 2011;32(4):303-9.

64.- Andrei S, Nguyen M, Berthoud V, Morgant MC, Bouhemad B, Guinot PG; ECMORIX Study Group. Evaluation of the Oxiris Membrane in Cardiogenic Shock Requiring Extracorporeal Membrane Oxygenation Support: Study Protocol for a Single Center,

Single-Blind, Randomized Controlled Trial. Front Cardiovasc Med. 2021 Oct 11;8:1-6.

65.- Pajkrt D, Doran JE, Koster F, Lerch PG, Arnet B, Van der Poll T, et al. Antiinflammatory effects of reconstituted high-density lipoprotein during human endotoxemia. J Exp Med. 1996;184(5):1601-8.

ESTHER|
VILLAR|
REAL|
TELLO|

Firmado
digitalmente por
ESTHER|
VILLARREAL|TELLO
Fecha: 2024.04.25
13:34:32 +02'00'