UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

Polimorfismos genéticos predictores de mortalidad asociada a shock séptico en pacientes sometidos a cirugía mayor

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Felipe Pérez García

Directores

Salvador Resino García
María Ángeles Jiménez Sousa
Eduardo Tamayo Gómez

Madrid

© Felipe Pérez García, 2023

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

POLIMORFISMOS GENÉTICOS PREDICTORES DE MORTALIDAD ASOCIADA A SHOCK SÉPTICO EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA MAYOR

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Felipe Pérez García

DIRECTORES

Salvador Resino García
María Ángeles Jiménez Sousa
Eduardo Tamayo Gómez

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

Programa de Doctorado en Investigación Biomédica

TESIS DOCTORAL:

POLIMORFISMOS GENÉTICOS PREDICTORES DE MORTALIDAD ASOCIADA A SHOCK SÉPTICO EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA MAYOR

Presentada por Felipe Pérez García para optar al grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid

Dirigida por:
Dr. Salvador Resino García
Dra. María Ángeles Jiménez Sousa
Dr. Eduardo Tamayo Gómez

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mis directores Salva, Nines y Eduardo. Sin vosotros estas líneas, amén de todas las demás de esta tesis, no existirían. Mil gracias Salva por creer y confiar en mí, por ser el primero que vio mi CV y quiso apostar de verdad por mí. Echando la vista atrás veo que ese verano de 2019 que empecé a colaborar contigo supuso sin duda un punto de inflexión en mi carrera profesional. Gracias por esa oportunidad y por todas las demás que me has dado y que seguirán surgiendo. Muchas gracias Nines, por todo lo que me has enseñado en este tiempo. Recuerdo las primeras veces que hablaba contigo, cómo me sentía pequeñito por todo lo que tú sabías y por todo lo que yo ignoraba, y recuerdo la motivación de querer aprender más y más que casi había olvidado. Mil gracias por todo eso y por ser un ejemplo de lucha en lo profesional y en lo personal, para mí y seguro que para todos los que te rodean. Y, por último, pero no por ello menos importante, muchas gracias, Eduardo, por tu ayuda y tu gran implicación en esta tesis y sobre todo por tu confianza en mi trabajo más allá de la propia tesis doctoral.

En segundo lugar, agradecer sinceramente a Juan, por creer en mí y darme la oportunidad de trabajar como Microbiólogo en tu servicio, por motivarme para ser mejor profesional y por enseñarme que se puede ser un excelente jefe sin dejar de ser una excelente persona. Lo que tengo ahora te lo debo a ti, muchas gracias por dejarme demostrar que la carrera de Felipe como microbiólogo no había terminado, sino que estaba aún por empezar.

A mis compañeros del HUPA, desde técnicos, enfermeras, facultativos… no pongo todos los nombres, pero sabéis quiénes sois, por todo el cariño y la amistad que me habéis dado en estos años. Cuando me incorporé al hospital, supe en seguida que el ambiente de trabajo era bueno, pero no me podía imaginar hasta dónde iba a llegar mi cariño por vosotros. El trabajo es para mí una parte muy importante de mi vida, y es de justicia decir que, gracias a toda la familia del HUPA, esa parte es mucho más interesante, motivadora, y por qué no decirlo, divertida. Gracias a vosotros sé cómo se puede estar sudando la gota gorda y trabajando de sol a sol en mitad de una horrible pandemia, y mantener la sonrisa y el buen ánimo: teniendo unos compañeros como vosotros.

A mis amigos, ya sean segovianos, madrileños o de cualquier otro gentilicio, por haberme ayudado a ser como soy y haberme acompañado en tantos momentos académicos y personales, y muy en especial a Jaime, por todo el tiempo que hemos pasado hablando de nuestras tesis, amén de todo tipo de tonterías, ya fuera corriendo o tomando algo, y por servirme de motivación extra para doctorarme cuando fui a tu defensa y pensé: “qué ganas de que llegue el día en el que pueda estar donde estás tú”.

A mi familia, y en especial a mis padres, por todo vuestro apoyo ya no solo en la tesis, sino en todas las etapas de mi vida. Soy lo que soy gracias a lo que me habéis enseñado, y espero poder transmitir a mi propia familia los valores que me habéis inculcado. Y si hablo de familia, no puedo olvidarme de mi familia política, que salvo por el código genético no compartido, los considero parte de mí y de mi círculo tanto como yo mismo. Gracias también por todo vuestro apoyo, y por mostrarme siempre un cariño sin fisuras.

Y, por último, pero no por ello menos importante, a mi FAMILY: a Rebeca y a Nacho. Esta tesis ha salido adelante gracias a vosotros, pero en este tiempo me habéis dado mucho más de lo que podría devolveros, aunque viviera mil años.

A Rebeca, mi Queca, mi particular Marie Curie, por estar SIEMPRE conmigo, ayudándome, con cada sonrisa, cada arrumaco, cada palabra… Gracias por tu cariño incondicional y por demostrarme que la ciencia se hace mejor cuando se hace en familia. Creo que soy de las pocas personas que pueden decir que su mayor ayuda a la hora de investigar es también el mayor amor de su vida, y por eso cada día me siento afortunado. No hay suficientes “gracias” en el mundo para expresarte ahora lo agradecido que estoy, pero espero que darte las gracias todos los días durante el resto de nuestra vida pueda compensarlo.

Y con respecto a Nacho, has sido el último en llegar, pero desde que pude verte con mis propios ojos por primera vez, no he podido dejar de sentir hacia ti una clase de amor que creía que solo era capaz de sentir por tu madre. Te has convertido en una de las partes más importantes de nuestra vida, y espero que cuando seas capaz de leer y entender estas líneas, puedas comprender por qué esta tesis te la dedico a ti, como un presente muy especial al niño que ha sido el mayor regalo que nadie podría haberme hecho jamás. Te quiero, Nachete.

ÍNDICE

ÍNDICE

I. ABREVIATURAS 13
II. RESUMEN 19
III. ABSTRACT 23
IV. INTRODUCCIÓN 27
1. DEFINICIONES DE SEPSIS Y SHOCK SÉPTICO 29
1.1. Origen del término “sepsis” 29
1.2. Definiciones Sepsis-1 29
1.3. Definiciones Sepsis-2 31
1.4. Definiciones Sepsis-3 32
2. EPIDEMIOLOGÍA, ETIOLOGÍA Y MORBIMORTALIDAD DE LA SEPSIS 35
2.1. Epidemiología de la sepsis 35
2.2. Etiología de la sepsis 36
2.3. Mortalidad de la sepsis 37
2.4. Consecuencias a largo plazo 38
2.5. Factores de riesgo de mortalidad 39
3. MANEJO DE LA SEPSIS Y EL SHOCK SÉPTICO 40
3.1. Reconocimiento temprano y escalas de gravedad 40
3.2. Guías de manejo clínico de la sepsis y el shock séptico 42
4. RESPUESTA INMUNITARIA EN LA SEPSIS Y EL SHOCK SÉPTICO 45
4.1. Respuesta inmunitaria frente a las infecciones 46
4.2. Mecanismos proinflamatorios en la sepsis 48
4.3. Inmunosupresión en la sepsis 53
5. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN PRIORITARIAS 57
5.1. Identificación de biomarcadores pronósticos del hospedador 58
5.2. Estudio de polimorfismos genéticos en sepsis 60
5.3. Polimorfismos genéticos estudiados en esta tesis doctoral 63
V. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 67
VI. RESULTADOS 71
Artículo 1 73
Artículo 2 83
Artículo 3 95
Artículo 4 103
VII. DISCUSIÓN INTEGRADORA 109
VIII. CONCLUSIONES 121
IX. REFERENCIAS 125
X. RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS 141

I. ABREVIATURAS

ACCP: *American College of Chest Physicians*

aHR: *adjusted hazard ratio*

APACHE: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*

ATS: *American Thoracic Society*

AUROC: *area under the receiver-operating characteristic*

AVPU: *alert, verbal, pain, unresponsive*

CCL: *C-C motif chemokine ligand* (ligando de quimiocinas con motivo C-C)

CDC42BPG: *CDC42-binding protein kinase gamma* (proteína quinasa gamma de unión al ciclo de división celular 42)

CEACAM7: molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 7

CID: coagulación intravascular diseminada

CLRs: *C-type lectin receptors* (receptores de lectina tipo C)

CMH-II: complejo mayor de histocompatibilidad clase II

CMV: Citomegalovirus

CPA: célula presentadora de antígeno

DAMPs: *damage-associated molecular patterns* (alarminas)

eQTL: *expression quantitative trait loci* (loci de rasgos cuantitativos de expresión)

ESICM: *European Society of Intensive Care Medicine*

FIO_2: fracción de oxígeno inspirado

FT: factor tisular

GRADE: *Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*

GWAS: genome wide association studies

HLA-DR: antígeno leucocitario humano DR.

HWE: Hardy-Weinberg equilibrium (equilibrio de Hardy-Weinberg)

ICON: *Intensive Care Over Nations*

IFN-ɣ: interferón gamma

IFNL3: Interferón Lambda 3

IL: interleucina

IL-1R1: receptor tipo 1 de la Interleucina 1

IL-1R2: receptor tipo 2 de la Interleucina 1

ISG: interferon stimulated gene (gen estimulado por interferón)

LD: *linkage desequilibrium* (desequilibrio de ligamiento)

MDSC: *myeloid-derived supressor cells* (células supresoras derivadas de línea mieloide)

MAF: *minor allele frequency* (frecuencia alélica menor)

MEWS: *Modified Early Warning Score*

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina

NETs: *neutrophil extracelular traps* (trampas extracelulares de neutrófilos)

NEWS: *National Early Warning Score*

NF-kB: factor nuclear kappa B

NGS: *next generation sequencing* (secuenciación de nueva generación o secuenciación masiva)

NK: *natural killer*

OLFM4: Olfactomedina 4

PaO_2: presión arterial de oxígeno

PAM: presión arterial media

PAMPs: *pathogen-associated molecular patterns* (patrones moleculares asociados a patógenos)

PAR-1: *protease-activated receptor-1* – PAR-1 (receptor asociado a proteasa tipo 1)

PCR: proteína C reactiva

PD-1: *programmed death-1* (molécula de muerte programada tipo 1)

PD-L1: ligando de la molécula de muerte programada tipo 1

PRRs: *pattern recognition receptors* (receptores de reconocimiento de patrones)

qSOFA: *quick* SOFA

RLRs: *(RIG)-I-like receptors* (receptores relacionados con el gen inducible por ácido retinoico)

ROS: especies reactivas de oxígeno

SAPS: *Simplified Acute Physiology Score*

$SatO_2$: saturación arterial de oxígeno periférico

SCCM: *Society of Critical Care Medicine*

SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo

SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

SIS: *Surgical Infection Society*

SNC: sistema nervioso central

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

SOAP: *Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients*

SOFA *score*: *sequential organ failure assessment score*

SSC: *Surviving Sepsis Campaign*

TLRs: *toll-like receptors* (receptores tipo Toll)

TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa

TP: tiempo de protrombina

Treg: linfocitos T reguladores

UCI: unidad de cuidados intensivos

VHC: virus de la hepatitis C

VHS: virus del herpes simplex

VIH: virus de la Inmunodeficiencia Humana

VRS: virus respiratorio sincitial

II. RESUMEN

Polimorfismos genéticos predictores de mortalidad asociada a shock séptico en pacientes sometidos a cirugía mayor

Introducción:

La sepsis es un proceso patológico de respuesta desregulada a una infección. Los casos graves de sepsis pueden desembocar en shock séptico, que se relaciona con una elevada morbimortalidad. Asimismo, existe una elevada heterogeneidad en los pacientes sépticos que condicionan su evolución y pronóstico. El estudio y caracterización de las diferencias a nivel genético, y en concreto la existencia de polimorfismos genéticos de un solo nucleótido (SNPs), puede contribuir a conocer mejor la inmunopatogenia de esta enfermedad, así como mejorar su manejo.

Objetivos:

Estudiar la presencia de diferentes SNPs en genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata y su asociación con la mortalidad en pacientes que fueron sometidos a cirugía mayor y que desarrollaron shock séptico tras la cirugía.

Métodos:

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo sobre 175 pacientes que desarrollaron shock séptico tras una cirugía mayor en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid, entre 2008 y 2012. Se seleccionaron un total de quince SNPs en cuatro genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata: una citocina (Interferón Lambda 3 – *IFNL3*, SNP analizado: rs12980275), un marcador de subpoblaciones de neutrófilos (Olfactomedina 4 – *OLFM4*, SNPs analizados: rs9536339, rs1891944, rs9563130, rs9536343, rs17552047, rs2298229 y rs12552), una glicoproteína de superficie (Molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 7 – *CEACAM7*, SNPs analizados: rs1001578, rs10409040, rs59654817 y rs889365) y el receptor de una citocina proinflamatoria (Receptor tipo I de la Interleucina 1 – *IL-1R1*, SNPs analizados: rs2110726, rs3917225 y rs6755229). Se estudió la relación entre dichos SNPs y la mortalidad a 28 días desde el diagnóstico de shock séptico, empleando curvas de supervivencia de Kaplan-Meier y regresión de riesgos proporcionales de Cox multivariante, ajustando por las covariables clínicas más significativas.

Resultados:

De los 175 pacientes con shock séptico, 62 (35,4%) fallecieron. Encontramos varios SNPs en los genes seleccionados que se relacionaron con la mortalidad en estos pacientes: i) *CEACAM7*: los genotipos CG/GG de rs10409040 y AA de rs889365 se asociaron con una mayor mortalidad, mientras que el genotipo CT/TT de rs1001578 se relacionó con una mayor supervivencia; ii) *IFNL-3*: la presencia del alelo G (modelo aditivo) de rs12980275 se asoció con mayor riesgo de muerte; iii) *IL-1R1*: el genotipo AG/GG de rs6755229 se asoció con mayor riesgo de muerte; iv) *OLFM4*: la presencia del alelo A de rs17552047 se asoció con una mayor supervivencia. Además, el empleo de este SNP, junto con las variables clínicas, demostró ser útil para desarrollar un modelo predictivo para el desenlace del shock séptico.

Conclusiones:

En estos estudios, encontramos que la presencia de varios SNPs en genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata se asoció con diferencias en la mortalidad de los pacientes con shock séptico tras una cirugía mayor. El estudio de la genética de los pacientes con shock séptico puede servir para identificar aquellos pacientes que presentan un mayor riesgo de mortalidad y la construcción de índices pronósticos que incluyan estas variables genéticas.

III. ABSTRACT

Genetic polymorphisms predictors of septic shock associated mortality in patients undergoing major surgery

Introduction:

Sepsis is a pathological process due to a dysregulated response to an infection. Severe cases of sepsis can lead to septic shock, which is associated with high morbidity and mortality. Likewise, there is a high heterogeneity in septic patients that conditions their evolution and prognosis. The study and characterization of the differences at the genetic level, and specifically the existence of single nucleotide polymorphisms (SNPs) can contribute to a better understanding of the immunopathogenesis of this disease, as well as improve its management.

Objectives:

To study the presence of different SNPs in genes related to the innate immune response and its association with mortality in patients who underwent major surgery and who developed septic shock after surgery.

Methods:

A retrospective study was carried out on 175 patients who developed septic shock after major surgery at the Hospital Clínico Universitario de Valladolid, between 2008 and 2012. A total of fifteen SNPs in four genes related to the innate immune response were selected: a cytokine (Interferon Lambda 3 – *IFNL3*, analyzed SNP: rs12980275), a marker of subpopulations of neutrophils (Olfactomedin 4 – *OLFM4*, analyzed SNPs: rs9536339, rs1891944, rs9563130, rs9536343, rs17552047, rs2298229 and rs12552), a surface glycoprotein (Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 7 – *CEACAM7*, analyzed SNPs: rs1001578, rs10409040, rs59654817 and rs889365) and the receptor of a proinflammatory cytokine (Type I Interleukin 1 Receptor – *IL-1R1*, SNPs analyzed: rs2110726, rs3917225 and rs6755229). The relationship between these SNPs and 28-day mortality after septic shock diagnosis was assessed using Kaplan-Meier survival curves and multivariate Cox proportional hazards regression, adjusting for the most significant clinical covariates.

Results:

Of the 175 patients with septic shock, 62 (35.4%) died. We found several SNPs in the selected genes associated with mortality in these patients: i) *CEACAM7*: rs10409040 CG/GG and rs889365 AA genotypes were associated with increased mortality, while rs1001578 CT/TT genotypes were associated with increased survival; ii) *IFNL-3*: the presence of the G allele (additive model) in rs12980275 was associated with an increased risk of death; iii) *IL-1R1*: rs6755229 AG/GG genotypes were associated with an increased risk of death; iv) *OLFM4*: rs17552047 A allele predicted septic shock survival. Furthermore, the employ of this SNP, together with clinical variables, proved to be useful in developing a predictive model for the outcome of septic shock.

Conclusions:

In our studies, we found that the presence of several SNPs in genes related to the innate immune response was associated with differences in the mortality of patients with septic shock after major surgery. The study of the genetic background of patients with septic shock can serve to identify those patients who have a higher risk of mortality and the construction of prognostic indices that include these genetic variables.

IV. INTRODUCCIÓN

1. DEFINICIONES DE SEPSIS Y SHOCK SÉPTICO

De acuerdo con la definición actual, la sepsis es una disfunción orgánica potencialmente mortal producida por una respuesta desregulada del hospedador frente a una infección, mientras que el shock séptico se refiere a un subconjunto de pacientes con sepsis en los cuales las anormalidades circulatorias, celulares y metabólicas son lo suficientemente marcadas como para incrementar significativamente la mortalidad (1).

1.1. Origen del término "sepsis"

"Sepsis" es una palabra derivada del griego antiguo [σηψις], que significaba "descomposición de materiales orgánicos de origen animal o vegetal en presencia de bacterias". La palabra "sepsis" se empleó por primera vez en los poemas homéricos como derivado del verbo "sepo" [σηπω], que significaba "yo pudro" (2). El término "sepsis" también se encuentra en el *Corpus Hippocraticum*, siendo utilizado indistintamente con la palabra "sepidon" [σηπεδων]. El término de "sepsis" fue utilizado por Aristóteles, Plutarco y Galeno con este significado, y ha estado en uso prácticamente sin cambio de significado durante más de 2700 años. A principios del siglo XX, Sir William Osler puso de manifiesto la importancia de la respuesta del hospedador en la sepsis, al decir que "salvo en contadas ocasiones, el paciente parece que fallece por la respuesta del cuerpo a la infección, en vez de por la infección en sí misma" (3).

1.2. Definiciones Sepsis-1

La definición de la sepsis ha ido evolucionando en las últimas décadas. Puede encontrarse un resumen de los cambios en las diferentes definiciones en la **Tabla 1**.

En primer lugar, en 1992, el *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference* (ACCP/SCCM) estableció una definición de sepsis, basándose en el concepto de "síndrome de respuesta inflamatoria sistémica" (o SIRS por sus siglas en inglés) (4). Así, se definió "sepsis" para aquellos pacientes que presentaban una respuesta sistémica a una infección, cumpliendo con dos o más de los criterios del SIRS, en presencia de una infección sospechada o confirmada.

Además, se introdujeron los términos "sepsis grave" para pacientes sépticos con disfunción orgánica asociada, hipoperfusión o hipotensión, y "shock séptico", para aquellos con sepsis con hipotensión persistente a pesar de una adecuada resucitación con fluidos, junto con alteraciones de la perfusión tisular.

Tabla 1. Definiciones de sepsis

Sepsis-1 (1992)	Sepsis-2 (2001)	Sepsis-3 (2016)
Sepsis: respuesta sistémica a una infección, manifestada por la presencia de dos o más criterios SIRS como resultado de una infección. **Criterios SIRS**: 1. Temperatura > 38ºC o < 36ºC. 2. Frecuencia cardíaca > 90 latidos por minuto. 3. Frecuencia respiratoria > 20 respiraciones por minuto o $PaCO_2$ < 32 mmHg. 4. Leucocitos > 12.000 céls/mm^3, < 4.000 céls/mm^3 o > 10% formas inmaduras. **Sepsis grave**: sepsis asociada a disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión. **Shock séptico**: sepsis con hipotensión, a pesar de una adecuada resucitación con fluidos, junto con anormalidades de la perfusión.	**Criterios diagnósticos para sepsis**: infección documentada o sospechada, junto con alguno de los siguientes: 1. Variables generales: fiebre, hipotermia, taquipnea, estado mental alterado, taquirritmia, edema significativo o balance de fluidos positivo o hiperglicemia (en ausencia de diabetes). 2. Variables inflamatorias: leucocitosis, leucopenia, > 10% formas inmaduras, proteína C reactiva elevada o procalcitonina elevada. 3. Variables hemodinámicas: hipotensión, saturación mixta de O_2 > 70% o índice cardíaco > 3,5 $L*min^{-1}*M^{-23}$. 4. Variables de disfunción orgánica: hipoxemia, oliguria, aumento de creatinina, alteraciones de la coagulación, íleo, plaquetopenia o hiperbilirrubinemia. 5. Variables de perfusión tisular: lactato elevado o repleción capilar reducida.	**Cribado para sepsis**: un incremento de ≥ 2 puntos en qSOFA debería crear una sospecha de sepsis y disfunción orgánica. **Definición de sepsis**: infección sospechada o documentada y aumento de ≥ 2 en el SOFA *score*. **Sepsis**: disfunción orgánica potencialmente mortal producida por una respuesta desregulada del hospedador frente a una infección. **Shock séptico**: subconjunto de pacientes con sepsis en los cuales las anormalidades circulatorias, celulares y metabólicas son los suficientemente marcadas como para incrementar significativamente la mortalidad. **Definición de shock séptico**: sepsis con lactato > 2mmol/L y necesidad de terapia vasopresora para mantener una presión arterial ≥ 65 mmHg.

SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica; $PaCO_2$: presión arterial de dióxido de carbono; SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*; qSOFA: *quick* SOFA.

A pesar de los criterios diagnósticos y de las diferentes escalas para medir la gravedad (sepsis – sepsis grave – shock séptico), la definición de sepsis en base a los criterios de SIRS presentaba varias limitaciones. Por un lado, estos criterios presentaban una elevada sensibilidad para el diagnóstico de sepsis, pero la especificidad era baja, lo cual podía llevar al diagnóstico de sepsis en un elevado número de pacientes que no tenían esta enfermedad pero sí presentaban una infección junto con síntomas de una reacción inflamatoria a nivel sistémico (5). Por otro lado, otros estudios evidenciaron que la necesidad de dos o más criterios SIRS para definir la

sepsis grave podía llegar a excluir del diagnóstico a hasta uno de cada ocho pacientes con infección y disfunción orgánica (6).

1.3. Definiciones Sepsis-2

Estas limitaciones dieron lugar a que, en diciembre de 2001, tuviera lugar en Washington DC una nueva reunión de expertos pertenecientes a distintas sociedades científicas relacionadas con los cuidados intensivos: la *Society of Critical Care Medicine* (SCCM), la *European Society of Intensive Care Medicine* (ESICM), el *American College of Chest Physicians* (ACCP), la *American Thoracic Society* (ATS), y la *Surgical Infection Society* (SIS). A raíz de esa reunión, en 2003 se publicaron los criterios diagnósticos actualizados para la sepsis (criterios ***Sepsis-2***) (7). Se reconoció que el concepto de SIRS presentaba limitaciones, debido a que sus criterios eran demasiado sensibles y su especificidad era baja. La definición de sepsis no sufrió cambios, manteniéndose como un síndrome clínico definido por la presencia de una infección y de una respuesta inflamatoria sistémica, pero se incluyó una extensa lista de posibles signos de inflamación sistémica en respuesta a una infección, que fueron clasificados en cinco grupos: variables generales (por ejemplo, fiebre o taquipnea), variables inflamatorias (leucocitosis o proteína C reactiva [PCR] elevada, entre otras), variables hemodinámicas (por ejemplo, hipotensión), variables de disfunción orgánica (hipoxemia, oliguria, alteraciones de la coagulación, entre otras) y variables de hipoperfusión tisular (por ejemplo, hiperlactacidemia). Las definiciones de sepsis grave y shock séptico tampoco sufrieron cambios con respecto a cómo habían sido descritas hacía diez años, reconociéndose que las definiciones actuales no permitían una estratificación precisa de la respuesta del huésped a la infección.

La principal limitación de los criterios ***Sepsis-2*** de 2001 fue que, en esencia, esta reunión supuso una ampliación de la lista de criterios de diagnóstico de sepsis, pero no ofreció ningún cambio en las definiciones existentes de sepsis, sepsis grave y shock séptico. Además, así como los criterios diagnósticos para sepsis se ampliaron, los de sepsis grave no sufrieron cambios, lo cual podía dar lugar a confusiones la hora de diagnosticar “sepsis” con los nuevos criterios diagnósticos o "sepsis grave" con los antiguos. Estas limitaciones llevaron a que, en muchas ocasiones, los términos de “sepsis” y “sepsis grave” se usaran indistintamente (5, 8). Para solventar este problema, diversos grupos de expertos insistían en la necesidad de incluir la disfunción orgánica en los criterios de sepsis, redefiniendo ésta como una respuesta sistémica a una infección en presencia de disfunción orgánica.

1.4. Definiciones Sepsis-3

En 2014, a la vista de la necesidad de actualizar las definiciones actuales, tuvo lugar una tercera reunión de expertos de la SCCM y la ESICM. A raíz de dicha reunión, en 2016 se publicaron las nuevas definiciones de consenso para la sepsis y el shock séptico (criterios ***Sepsis-3***) (1), que son las que se encuentran vigentes en el momento de la redacción de esta tesis doctoral. En estas definiciones, la sepsis se define como una disfunción orgánica potencialmente mortal, causada por una respuesta desregulada del hospedador a una infección y el término "shock séptico" se restringe a aquellos pacientes con sepsis en los que las anomalías circulatorias y celulares/metabólicas subyacentes son lo suficientemente profundas como para aumentar sustancialmente la mortalidad (1). A efectos prácticos, se clasifica como shock séptico a aquellos pacientes con sepsis que, a pesar de una adecuada resucitación con fluidos, necesitan vasopresores para mantener una presión arterial ≥ 65 mmHg y presentan además un lactato sérico elevado (> 2mmol/L). Como puede verse, los principales cambios de estas nuevas definiciones son la eliminación del concepto de sepsis grave y el abandono de los criterios SIRS, que como ya se ha comentado, presentaban bajo poder de discriminación (9). Además, se redefinen los conceptos de sepsis y shock séptico y se incluye dentro de la definición de sepsis la disfunción orgánica. Como herramienta para identificar la disfunción orgánica, en estas definiciones se emplea la escala o *score* SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment score*) que se muestra en la **Tabla 2**.

La escala SOFA evalúa diferentes parámetros de seis órganos o sistemas (respiratorios, de la coagulación, hepáticos, cardiovasculares, del sistema nervioso central y renales) relacionados con la función de cada uno de estos, para establecer la gravedad de la disfunción orgánica. Esta escala da una puntuación para cada órgano entre 0 y 4, en función del grado de disfunción del órgano que se trate, y en conjunto permite obtener una puntuación global entre 0 y 24. El SOFA *score* debe ser calculado en las primeras 24 horas tras el ingreso en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) y repetirse cada 48 horas, habiéndose demostrado que es una buena herramienta pronóstica. Así, algunos estudios han estimado que un aumento del SOFA *score* en las primeras 48 horas tras el ingreso en UCI, se asocia con una tasa elevada de mortalidad (10-13). Por todo esto, se puede concluir que el tener un valor de escala SOFA mayor, se asocia con un mayor riesgo de muerte (14, 15).

En el caso de la sepsis, se considera que un incremento de dos o más puntos en el SOFA *score* como consecuencia de una infección sirve en la práctica clínica para definir la disfunción orgánica y poder así establecer que, aquellos pacientes que cumplen ese criterio (SOFA ≥ 2), presentan sepsis.

Tabla 2. Escala *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA)

Criterio	Score				
	0	**1**	**2**	**3**	**4**
Respiratorio					
PaO_2/FIO_2, (mmHg)	≥ 400	< 400	< 300	< 200	< 100
Coagulación					
Plaquetas ($10^3/\mu L$)	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Hígado					
Bilirrubina (mg/dL)	< 1,2	1,2 – 1,9	2,0 – 5,9	6,0 – 11,9	> 12,0
Cardiovascular					
Tensión arterial	PAM ≥ 70 mmHg	PAM < 70 mmHg	Dopamina a <5 o dobutamina (cualquier dosis)	Dopamina 5,1 – 15 o epinefrina ≤ 0,1 o noreprinefina ≤ 0,1	Dopamina > 15 o epinefrina > 0,1 o norepinefrina > 0,1
SNC					
Escala de Glasgow	15	13 – 14	10 – 12	6 – 9	< 6
Renal					
Creatinina (mg/dL)	< 1,2	1,2 – 1,9	2,0 – 3,4	3,5 – 4,9	> 5,0
Flujo urinario (mL/día)				< 500	< 200

PaO_2: presión arterial de oxígeno; FIO_2: fracción de oxígeno inspirado; $SatO_2$: Saturación arterial de oxígeno periférico; PAM: presión arterial media; SNC: sistema nervioso central. Los medicamentos vasoactivos se expresan como dosis en µg/kg/minuto, administradas durante al menos 1 hora.

Aunque el SOFA *score* es robusto y su uso es habitual dentro de las UCIs, resulta complejo de aplicar en otros contextos, como por ejemplo a nivel del Servicio de Urgencias o fuera del hospital. Por eso se propuso otra escala como herramienta de cribado para identificar de forma temprana a aquellos pacientes que puedan tener sepsis: el *quick* SOFA (qSOFA) (16), que resulta mucho más sencillo de calcular y permite identificar y estratificar el riesgo de sepsis de forma rápida, y así reducir la demora para el manejo adecuado de estos pacientes, algo clave para reducir la morbimortalidad de la sepsis.

El qSOFA emplea solo tres variables clínicas fácilmente medibles:

- Frecuencia respiratoria ≥ 22 respiraciones por minuto.
- Presión arterial sistólica ≤ 100 mmHg.
- Alteración del nivel de conciencia (escala de Glasgow < 15).

Esta sencilla escala asigna un punto por cada una de las citadas alteraciones, dando una puntuación comprendida entre 0 y 3 puntos. Combinando estas dos escalas (SOFA y qSOFA), se construyó un algoritmo diagnóstico para identificar a los pacientes con sepsis y shock séptico, que se reproduce a continuación en la **Figura 1**.

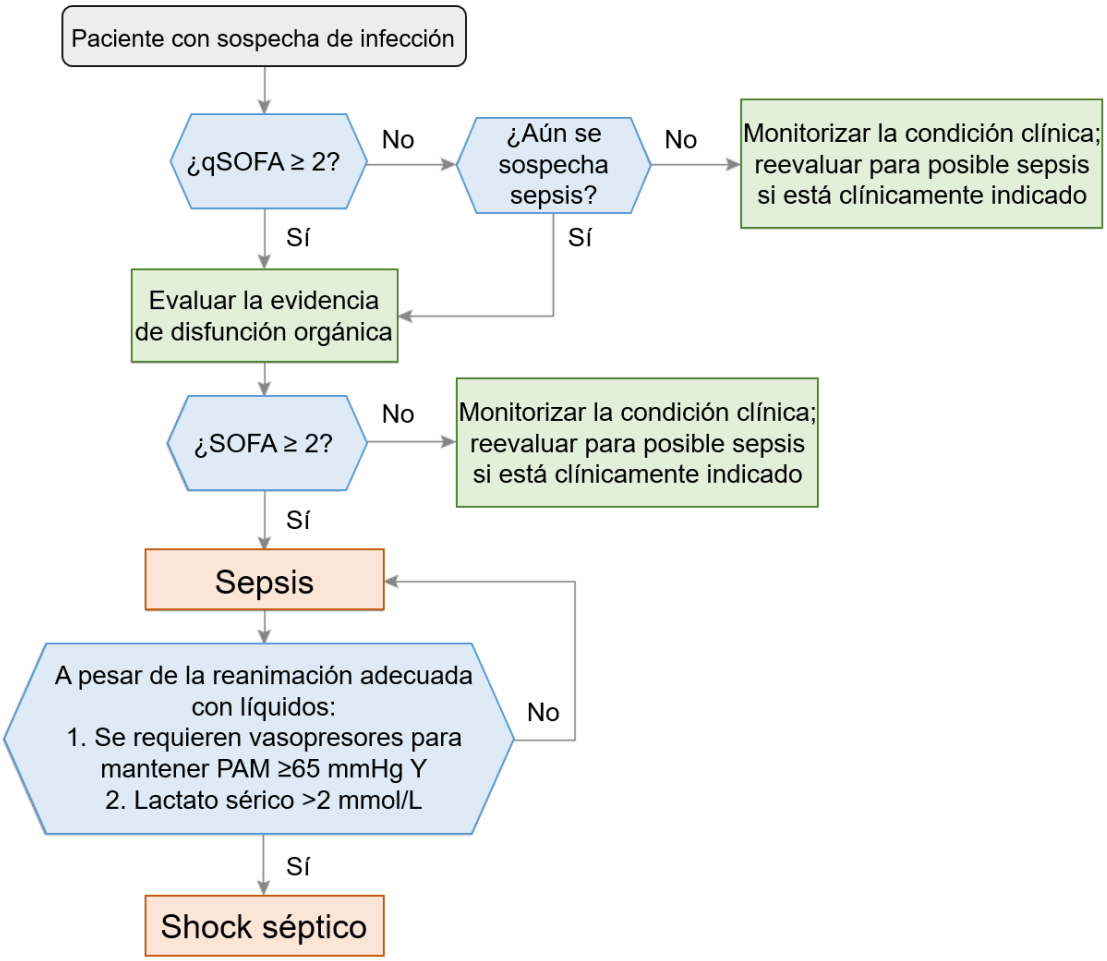


Figura 1. Identificación de los pacientes con sepsis y shock séptico (adaptado de Singer *et al*. (1)).

2. EPIDEMIOLOGÍA, ETIOLOGÍA Y MORBIMORTALIDAD DE LA SEPSIS

A la hora de hablar de epidemiología, etiología y morbimortalidad de esta enfermedad, hay que tener en cuenta que los diferentes estudios publicados pueden hablar de sepsis, sepsis grave o shock séptico, en función de las diferentes definiciones que hubiera en vigor en el momento de realizar dichos estudios. Debido a la complejidad de exponer cifras específicas de incidencia o de mortalidad para sepsis, sepsis grave o shock séptico y con el fin de facilitar la lectura y comprensión de esta parte, a lo largo de esta sección se hará referencia a los datos usando el término genérico de "sepsis", sin diferenciar sepsis, sepsis grave o shock séptico.

2.1. Epidemiología de la sepsis

Diferentes estudios epidemiológicos a nivel global han puesto de manifiesto que la sepsis es uno de los problemas sanitarios más importantes en todo el mundo, y se asocia con elevadas tasas de mortalidad en todos los países, siendo especialmente crítico en los países con menos recursos (17).

Uno de los estudios más recientes y relevantes a nivel mundial, es el realizado por el *Global Burden of Diseases*, que fue publicado a principios de 2020 y trató de estimar la incidencia y mortalidad de la sepsis a nivel global entre los años 1990 y 2017 en todo el mundo (18). En este estudio, se estimó que en 2017 se produjeron casi 49 millones de casos de sepsis en todo el mundo, suponiendo una incidencia estandarizada por edad de 678 casos/100.000 habitantes.

En cuanto a la mortalidad debida a la sepsis, en este artículo se estima que 11 millones de personas murieron debido a la sepsis en 2017, suponiendo esta cifra casi el 20% de todas las muertes a nivel mundial en ese año, aunque ésta se redujo en casi un 30% con respecto a los datos de 1990. Finalmente, se observaron importantes diferencias tanto en la incidencia como en la mortalidad entre distintas zonas del globo. Así, regiones como África subsahariana, Oceanía, y el sur, este y sudeste asiático fueron las que mayores cifras de incidencia y mortalidad presentaron (18).

Este estudio pone de manifiesto que, aunque la incidencia y la mortalidad de la sepsis se ha ido reduciendo en las últimas décadas, ésta sigue siendo inaceptablemente alta, y supone una de las causas más importantes de muerte y pérdida de salud a nivel global, especialmente en regiones como África subsahariana.

La sepsis también ha supuesto una carga creciente en el sistema sanitario público español durante el siglo XXI. Un trabajo publicado en 2018 por Álvaro-Meca *et al*. estudió la incidencia, mortalidad y costes asociados de la sepsis en España entre los años 2000 y 2013 (19). En dicho estudio, se evidenció que la incidencia de sepsis en España (número de casos por 1.000 habitantes) entre los años 2000 y 2013 aumentó de forma significativa ($p<0,001$), desde 3,30 (2000-2004), pasando por 4,28 (2005-2009) hasta 4,45 (2010-2013). Sin embargo, y en línea con el estudio de Rudd *et al*. (18), la tasa de letalidad (o proporción de pacientes con sepsis que fallecieron) disminuyó también significativamente ($p<0,001$), desde el 19,1% (2000-2004), pasando por un 18,4% (2005-2009) hasta un 17,9% (2010-2013).

2.2. Etiología de la sepsis

El origen de la infección y el microorganismo causante de la sepsis varían según la ubicación geográfica y la edad del paciente, aunque las infecciones bacterianas del aparato respiratorio y gastrointestinal son las más comunes (20).

En términos generales y según el momento de aparición, la sepsis puede ser de origen comunitario (esto es, ser adquirida fuera del entorno hospitalario) o puede tratarse de cuadros relacionados con la asistencia sanitaria (cuando la infección se adquiere como consecuencia de la asistencia o atención recibida en un centro asistencial, ya sea un hospital, centro de especialidades, centro de diálisis, centro de media o larga estancia, etc.).

Se estima que aproximadamente el 80% de los casos de sepsis son de origen comunitario (21), siendo el origen de la infección más frecuente el tracto respiratorio (64%), seguido de las infecciones intraabdominales (20%), las infecciones del torrente sanguíneo (15%) y las infecciones del tracto genitourinario (14%) (22, 23).

En cuanto a los agentes etiológicos, en el estudio SOAP (*Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients*), realizado en 196 UCIs en 24 países europeos en 2002, se reportaron cifras muy similares de prevalencia para infecciones debidas a microorganismos Gram positivos y Gram negativos, siendo *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* los microorganismos más frecuentes (22). En el año 2012 se llevó a cabo el estudio ICON (*Intensive Care Over Nations*), en el que se reclutaron pacientes de 730 UCIs en 84 países de todo el mundo, constituyendo el estudio epidemiológico más ambicioso realizado hasta la fecha (17). En dicho estudio se detectaron algunas diferencias con respecto al estudio SOAP, como un mayor número de infecciones debidas a Gram negativos o un menor número de infecciones debidas a hongos (24).

Aunque la causa más frecuente de la sepsis es la bacteriana, es necesario puntualizar que puede originarse eventualmente debido a cualquier organismo infeccioso (21). Por ello, y puesto que el origen respiratorio de la infección es el más frecuente, otros microorganismos como los virus pueden ser los causantes de este cuadro.

A este respecto, se ha estimado que anualmente se producen unos 200 millones de neumonías virales (25) y que aproximadamente en un 61% de las neumonías virales adquiridas en la comunidad sin coinfección bacteriana, los pacientes presentan sepsis viral (26). Teniendo en cuenta todo esto, la carga de la sepsis viral podría ser muy importante, siendo los agentes etiológicos más frecuentes el virus influenza tipo A, seguido por los virus parainfluenza tipo 1-3 y el virus respiratorio sincitial (VRS) (27).

Por otro lado, desde el inicio de la pandemia debida al SARS-CoV-2, se han publicado multitud de estudios que demuestran que las infecciones graves debidas a este virus también pueden producir viremia (presencia del ARN del virus en sangre), así como complicaciones tales como sepsis y shock séptico (28, 29).

Finalmente, en cuanto a la etiología de la sepsis, hay que señalar que no siempre se puede describir el microorganismo causante de la misma y, de hecho, aunque las bacterias son el primer agente causal, diversos estudios han estimado que en un 28-49% de los casos de sepsis no se consigue documentar una infección desde el punto de vista microbiológico (sepsis con cultivo negativo) (30). De hecho, en un estudio publicado en 2016, se reportó que este subgrupo de pacientes con cultivo negativo presentaba una disfunción orgánica y mortalidad asociada mayores que los pacientes con infección documentada microbiológicamente (30), por lo que se concluyó que el hecho de no poder documentar el agente etiológico de la infección es un factor de riesgo independiente de mortalidad en los pacientes con sepsis.

2.3. Mortalidad de la sepsis

Además de su elevada incidencia, la sepsis se asocia con una elevada morbimortalidad (18), acabando con la vida de entre una tercera y una sexta parte de los pacientes a los que afectan (31).

Con respecto al impacto de la sepsis dentro del entorno hospitalario, los datos de incidencia y mortalidad varían según la metodología empleada en los estudios. Un estudio realizado en 2017 pretendió analizar la incidencia y tendencias de la sepsis en pacientes de 409 hospitales de EE.UU. entre 2009 y 2014 (32). En dicho estudio se encontró que, de los casi tres millones de pacientes que ingresaron en 2014 en esos hospitales, el 6% (casi 174.000 pacientes) presentaron sepsis. Por otro lado, en cuanto

a la mortalidad hospitalaria de estos cuadros, los resultados de un metaanálisis de 51 estudios publicado en 2020 indican que la sepsis presenta una mortalidad de casi un 27% en los pacientes hospitalizados (33).

Además de por su incidencia y mortalidad, la sepsis es un síndrome muy importante al suponer el motivo más frecuente de ingreso en UCI en todo el mundo (34). Cuando los pacientes requieren ingreso en este tipo de unidades de hospitalización, la mortalidad se incrementa significativamente. Así, algunos estudios indican que aproximadamente uno de cada tres pacientes fallece dentro de los 30 días tras el ingreso en UCI (35, 36), y otros estudios elevan la cifra de mortalidad intrahospitalaria hasta casi un 42% (33).

2.4. Consecuencias a largo plazo

Además de la incidencia y la mortalidad en sí mismas, existen otros parámetros que se pueden analizar para evidenciar la carga que supone esta enfermedad, y que estudian el efecto de la sepsis más allá del ingreso hospitalario, y serían el número de reingresos que presentan estos pacientes y la mortalidad tras el alta hospitalaria.

En cuanto al reingreso hospitalario, los pacientes que sobreviven al episodio de sepsis y son finalmente dados de alta, presentan un importante riesgo de reingreso hospitalario. Un reciente metaanálisis publicado en 2020 encontró que los eventos de reingreso eran frecuentes, afectando a un 21% de los pacientes en los 30 días siguientes al alta hospitalaria, cifra que se elevaba al 39% si se estudiaba el reingreso hospitalario durante los 365 días posteriores al alta (37). Asimismo, en este estudio se concluyó que los factores de riesgo que se relacionaron con el reingreso fueron la edad avanzada, el sexo (varón), las comorbilidades del paciente, ingresos previos al episodio de sepsis y la gravedad del cuadro de sepsis (37). En otros artículos, se ha encontrado que casi el 50% de los supervivientes de episodios de sepsis acaban reingresando al menos una vez durante el siguiente año (38).

Por otro lado, en cuanto a la mortalidad a largo plazo tras el alta hospitalaria, es un parámetro difícil de calcular, pero en un estudio publicado en 2016, se estimó que uno de cada cinco pacientes que sobrevive a la sepsis, fallece dentro del primer año tras el alta hospitalaria (39). Otro estudio publicado en 2019 (40), reclutó a casi 95.000 pacientes que sobrevivieron a un episodio de sepsis y habían sido ingresados en UCI en Inglaterra de 2009 a 2014. En este estudio, encontraron que un 15% de los pacientes que fueron dados de alta murieron durante el año siguiente. Un porcentaje muy similar (16,1%) fue reportado por una revisión sistemática publicada en 2016 y que incluyó un total de 59 estudios epidemiológicos (41). Finalmente, un estudio publicado en 2020 y

que incluyó casi 88.000 pacientes que sobrevivieron a un episodio de sepsis que requirió ingreso hospitalario, estimó una mortalidad al año del 28% (42).

Con estos resultados, se puede concluir que la sepsis no solo se asocia a una elevada mortalidad intrahospitalaria, sino que supone además una importante carga de morbimortalidad para aquellos que sobreviven al episodio, asociándose con reingresos frecuentes y cifras de mortalidad al año muy elevadas.

2.5. Factores de riesgo de mortalidad

La sepsis afecta con mayor frecuencia a personas en edad avanzada, y es especialmente frecuente en pacientes con neoplasias o algún tipo de inmunosupresión, como la debida a la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) (43). La mortalidad hospitalaria de estos cuadros varía según la edad del paciente, sus comorbilidades y el número y tipo de disfunciones orgánicas que presenten (21, 32, 44).

Así, un estudio realizado en pacientes con infección intraabdominal y publicado a finales de 2021 mostró que la mortalidad aumentaba con la edad y que otros factores de riesgo independientes para la mortalidad incluían un inadecuado control del foco infeccioso, así como otras comorbilidades, como la diabetes, la enfermedad hepática o la insuficiencia cardíaca congestiva (45).

Finalmente, en cuanto a los factores de riesgo para mortalidad a largo plazo (al año) tras el episodio de sepsis, diversos estudios han señalado diferentes factores de riesgo, siendo los más importantes el número de disfunciones orgánicas durante la sepsis (39), la edad avanzada, el sexo (varón), la presencia de una o más comorbilidades, dependencia para las actividades de la vida diaria, y el ingreso prolongado (40), así como tener una neoplasia o un mal estado de salud en general (42), entre otros.

3. MANEJO DE LA SEPSIS Y EL SHOCK SÉPTICO

La sepsis podría describirse como el trastorno médico por excelencia de nuestro tiempo, ya que no solo es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados como ya se ha visto, sino que a menudo también es el resultado directo de las mejoras en la atención médica de pacientes con diversos trastornos para los cuales, hasta hace poco, no había tratamientos disponibles (46).

Como ya se ha comentado, aunque la mortalidad de la sepsis se ha ido reduciendo en los últimos años, ésta continúa siendo inaceptablemente alta (17, 18). Además, a pesar de más de tres décadas de investigación y de los numerosos ensayos clínicos que se han realizado (47), aún no se dispone de un tratamiento específico para esta enfermedad. Debido a esto, el tratamiento de la sepsis es fundamentalmente un tratamiento de soporte, incluyendo medidas generales como el control del foco de la infección, el inicio temprano de antibióticos y una adecuada resucitación de fluidos, entre otros (31).

3.1. Reconocimiento temprano y escalas de gravedad

Por todo lo que se ha expuesto, se pone de manifiesto que el tiempo es clave en el manejo de la sepsis, y en ese sentido el diagnóstico precoz de esta enfermedad es algo fundamental para reducir su morbimortalidad. A tal efecto, cobra especial importancia el empleo de escalas diagnósticas fiables y sencillas de implementar, como los *scores* SOFA y qSOFA anteriormente mencionados.

Existen multitud de estudios que avalan el poder predictivo del SOFA *score*. Una revisión sistemática publicada en 2008 demostró que los modelos predictivos de mortalidad basados en la puntuación del SOFA al ingreso tenían un rendimiento solo ligeramente peor que otras escalas mucho más complejas de calcular (como el índice *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation* [APACHE]) y comparable a otras escalas como el *Simplified Acute Physiology Score* [SAPS], en lo que se refiere a predicción de la mortalidad en pacientes ingresados en la UCI médica y/o quirúrgica (12). Otros estudios han demostrado que, independientemente de la puntuación inicial del SOFA *score*, un incremento durante las primeras 48 horas de ingreso en UCI se asocia con una tasa de mortalidad de al menos el 50% (10, 13).

En cuanto al qSOFA, en las recomendaciones de la 3ª Conferencia Internacional de Consenso sobre las Definiciones de Sepsis (***Sepsis-3***), se identificó esta escala como

un predictor de mala evolución en pacientes con infección sospechada o conocida, pero no se realizó ningún análisis para respaldar su uso como herramienta de cribado para la sepsis (16).

Desde entonces, se han publicado numerosos estudios para establecer la utilidad del qSOFA como herramienta de detección de sepsis, con resultados contradictorios (48-50). Se ha demostrado que el qSOFA es más específico, pero menos sensible que los criterios SIRS para identificar de forma temprana la disfunción orgánica. Sin embargo, esta herramienta dista de ser ideal, y debido a la poca sensibilidad del qSOFA, las actuales guías para el manejo de la sepsis y el shock séptico contienen una recomendación específica en contra del uso de esta escala como única herramienta de cribado para la sepsis o el shock séptico (31).

Además del SOFA y del qSOFA, existen otras escalas que pueden emplearse para alertar al médico del deterioro clínico de su paciente, que pueden usarse tanto en el contexto de la sepsis como en el de otras enfermedades. Algunas de ellas son el *National Early Warning Score* (NEWS) (51) o el *Modified Early Warning Score* (MEWS) (52). Dichas escalas se basan en el uso de diferentes parámetros clínicos, incluyendo la frecuencia respiratoria, presión arterial sistólica, frecuencia cardíaca y nivel de consciencia, empleando el sistema AVPU (acrónimo de ""*alert*", "*verbal*", "*pain*" y "*unresponsive*") (51). Ambas escalas son muy similares, diferenciándose en el número de variables necesarias (para la escala MEWS solo se miden cinco parámetros y en la escala NEWS se necesitan siete) y en los puntos de corte para cada variable. Sumando las puntuaciones obtenidas en cada uno de los parámetros en estas dos escalas, se obtiene un número que permite evaluar la gravedad que presenta el paciente. Así, un MEWS ≥ 5 por ejemplo, se asociaría con un mayor riesgo de muerte e ingreso en UCI (52).

Por todo lo expuesto, se puede concluir que existen diferentes escalas que pueden utilizarse a la hora de hacer sospechar al clínico si su paciente tiene sepsis, y que pueden también predecir la mortalidad en pacientes con sepsis, permitiendo así la estratificación de éstos. La pregunta más pertinente al respecto es si alguna de las escalas mencionadas (qSOFA, SOFA, NEWS, MEWS o incluso SIRS, que ya está en desuso) es significativamente mejor que las otras, pero por desgracia hasta el momento no hay una respuesta clara a esta pregunta.

Un estudio publicado en 2017 comparó las escalas qSOFA, SIRS, MEWS y NEWS para predecir muerte y necesidad de ingreso en UCI, obteniéndose que la escala que mejor discriminaba era la NEWS, seguida de MEWS, qSOFA y SIRS (53).

Por otro lado, un estudio multicéntrico realizado entre 2006 y 2018 evaluó también las escalas qSOFA, SIRS, MEWS y NEWS para predecir mortalidad o ingreso en UCI. En este estudio, de nuevo la escala con mayor poder de discriminación fue NEWS, seguida de MEWS, qSOFA y SIRS (54).

Finalmente, un metaanálisis publicado en 2022 estudió de nuevo las escalas qSOFA, NEWS y SIRS para predecir mortalidad en pacientes con sospecha de sepsis. En este estudio, obtuvieron que qSOFA era la escala que presentaba globalmente una mejor precisión pronóstica, seguida de NEWS y SIRS (55).

Como conclusión de las escalas de gravedad, se podría decir que existen muchas escalas pronósticas que son sencillas de calcular a partir de datos exclusivamente clínicos (como el qSOFA, entre otras), y que permiten estratificar a los pacientes según el riesgo de mortalidad. Sin embargo, estas escalas presentan limitaciones y los estudios que han comparado su rentabilidad diagnóstica han llegado a conclusiones opuestas en cuanto a qué escala es la mejor.

3.2. Guías de manejo clínico de la sepsis y el shock séptico

Antes de hablar de las guías clínicas de manejo de la sepsis y el shock séptico, es necesario hacer una breve reseña acerca de cómo surgieron y de lo que es la Campaña Internacional Sobrevivir a la Sepsis (*Surviving Sepsis Campaign* – SSC*)*. Esta campaña surgió como una iniciativa conjunta de la SCCM, la ESICM y el Foro Internacional sobre Sepsis, con el objetivo de reducir la morbilidad y mortalidad debidas a la sepsis y el shock séptico en todo el mundo.

La SSC surgió en el año 2002, en la reunión anual de la ESICM en Barcelona (56), y está dirigida por expertos internacionales comprometidos a mejorar tanto el tiempo de reconocimiento como el tratamiento de la sepsis y el shock séptico. Desde su origen, la iniciativa ha dado lugar a cinco ediciones de las guías de práctica clínica para el manejo de la sepsis y el shock séptico, publicadas en 2004 (57), 2008 (58), 2012 (59), 2017 (60) y 2021 (31), siendo esta última la que está vigente en el momento de redacción de esta tesis doctoral.

En la última edición, estas guías recogen un total de 93 recomendaciones, estructuradas en diferentes apartados:

- Cribado de pacientes con sepsis y shock séptico.
- Resucitación inicial.
- Presión arterial media.
- Ingreso en UCI.

- Infección.
- Manejo hemodinámico.
- Ventilación.
- Tratamientos adicionales.
- Desenlaces a largo plazo y metas de cuidado.

Dentro de estos apartados aparecen las diferentes recomendaciones a favor o en contra de una determinada práctica clínica, clasificadas como recomendaciones ”débiles” o “fuertes”, acompañadas del grado de evidencia para las mismas, de acuerdo con la metodología GRADE (*Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation*), que es la que se utiliza habitualmente para la realización de recomendaciones sobre práctica clínica (61), asignando grados de evidencia desde “muy bajo” hasta “elevado”, según el tipo y calidad de los estudios en los que se basen dichas recomendaciones.

Además de dichas recomendaciones, figuran otras denominadas “Declaraciones de mejores prácticas”, que son recomendaciones fuertes que si bien puede ser complicado establecer su grado de evidencia mediante la metodología GRADE, constituyen una parte de la mejor práctica clínica con estos pacientes, como por ejemplo, en pacientes con sepsis/shock séptico que presentan un elevado riesgo de infección por *S. aureus* resistente a Meticilina (MRSA), recomiendan como tratamiento empírico usar antimicrobianos con actividad frente a esta entidad infecciosa, sobre el usar antimicrobianos que no la tengan (recomendación nº 17) (31).

En esta nueva guía se reflejan también de forma explícita los cambios adoptados con respecto a la edición de 2016, a tenor de las nuevas evidencias generadas en los últimos años, y pueden consultarse tanto en la propia guía (31), como en el sumario ejecutivo de ésta (62). Algunos de estos cambios con respecto a las recomendaciones de 2016 serían por ejemplo la recomendación contra el uso de vitamina C intravenosa para el tratamiento de estos pacientes o la recomendación a favor del uso de cristaloides balanceados en lugar de solución salina para la resucitación (62).

Finalmente, en estas guías también se hace referencia a los paquetes (“*bundles*”) para sepsis. Estos paquetes han sido creados también por la SSC, y constituyen un conjunto seleccionado de intervenciones o procesos de cuidado extraídos de las guías de práctica clínica, creados para facilitar la mejora de la calidad y la implementación de las recomendaciones de las propias guías (62). Sin embargo, los paquetes se desarrollan a través de un proceso separado y se publican aparte de estas guías.

La última actualización de estos paquetes es de 2018, y el cambio más importante frente a los anteriores paquetes es que los *3-hour* y *6-hour bundles* han sido combinados en un solo *Hour-1 bundle* (63), con la intención de comenzar con la resucitación y el manejo de los pacientes con sepsis/shock séptico de forma inmediata (en la primera hora tras la detección del cuadro). Este *Hour-1 bundle* comprende las recomendaciones que figuran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Recomendaciones incluidas en el *Hour-1 bundle*

Elemento del *bundle*	**Grado de recomendación y nivel de evidencia**
Medir niveles de lactato. Volver a medir si lactato inicial > 2 mmol/L	Recomendación débil Bajo nivel de evidencia
Obtener hemocultivos antes de administrar antibióticos	Declaración de mejor práctica clínica
Administrar antibióticos de amplio espectro	Recomendación fuerte Moderado nivel de evidencia
Administrar rápidamente 30 ml/kg de cristaloides si hay hipotensión o lactato ≥ 4 mmol/L	Recomendación fuerte Bajo nivel de evidencia
Añadir vasopresores si el paciente está hipotenso durante o después de la resucitación con fluidos para mantener una presión arterial media ≥ 65 mmHg	Recomendación fuerte Moderado nivel de evidencia

Como conclusión, estas guías contienen las recomendaciones más actualizadas de la SSC para el manejo de la sepsis y el shock séptico, y deben ser tenidas en cuenta por los clínicos a la hora de tratar pacientes con sepsis o con riesgo de tener sepsis. Los fundamentos de las recomendaciones, sustentados por una evaluación rigurosa de los datos, la discusión de los panelistas y los aportes de los pacientes, dan una visión más profunda de cada recomendación. Así, aunque es cierto que pocas medidas cuentan con un fuerte grado de recomendación y una calidad de evidencia alta, estas guías fomentan el empleo de las mejores prácticas para la evaluación y el manejo de la sepsis, y también resaltan los aspectos del manejo donde se necesita evidencia adicional con mayor urgencia.

4. RESPUESTA INMUNITARIA EN LA SEPSIS Y EL SHOCK SÉPTICO

La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa contra los microorganismos patógenos una vez que las barreras físicas (tales como la piel o las mucosas) han sido atravesadas. Las células epiteliales y diversas células inmunitarias a nivel local, como los macrófagos reconocen distintas estructuras antigénicas que presentan estos patógenos y éstos, además, pueden asimismo activar directamente distintas moléculas de la cascada del complemento (20).

La activación de las células inmunitarias y del complemento da lugar a la producción de factores proinflamatorios, como citocinas y otros fragmentos del complemento, que tienen dos tipos de efectos. Por un lado, a nivel del endotelio, con vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular y, por otro lado, el reclutamiento y extravasación de células inmunitarias del torrente sanguíneo al foco de la infección, incluyendo neutrófilos y monocitos.

Los neutrófilos juegan un papel clave en el control de la infección por su amplio repertorio de mecanismos bactericidas, mientras que los monocitos se diferenciarán a macrófagos, participando en la inflamación. Finalmente, las células dendríticas que han migrado al foco inflamatorio y otras células presentadoras de antígeno (CPAs) interaccionarán con los linfocitos T y servirán como nexo entre la respuesta inmunitaria innata y la respuesta inmunitaria adaptativa (64).

Un resumen de la respuesta inmunitaria frente a las infecciones se representa a continuación en la **Figura 2**. En condiciones normales, esta respuesta inmunitaria se mantiene a nivel local y de forma controlada, y acaba desapareciendo cuando los microorganismos que la han originado son eliminados. Sin embargo, en la sepsis esta regulación falla y la respuesta inmunitaria se vuelve sistémica, produciendo disfunciones a nivel de distintos órganos y consecuencias negativas para el hospedador (65).

En los siguientes puntos se abordarán las generalidades de la respuesta inmunitaria frente a las infecciones, así como los diferentes mecanismos inmunitarios relacionados con la fisiopatología de la sepsis.

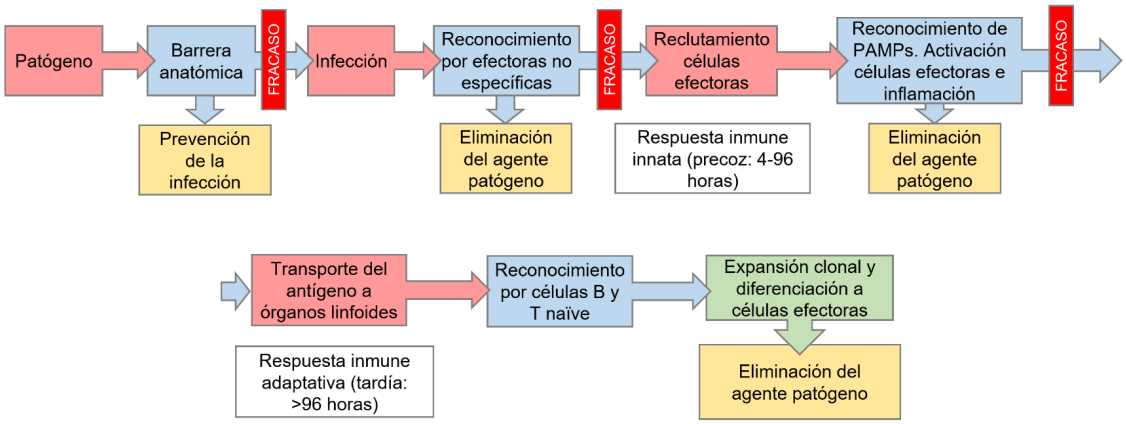


Figura 2. Respuesta inmunitaria inicial frente a las infecciones (adaptada de Murphy *et al*. (66))

4.1. Respuesta inmunitaria frente a las infecciones

El primer paso en la activación de la respuesta inmunitaria innata frente a una infección es la detección (reconocimiento) del microorganismo patógeno. Para ello, el sistema inmunitario emplea un amplio abanico de receptores que se denominan de forma genérica receptores de reconocimiento de patrones (*pattern recognition receptors* – PRRs). Estos PRRs se encuentran en la membrana celular y median el reconocimiento de microorganismos al identificar patrones moleculares asociados a patógenos (*pathogen-associated molecular patterns* – *PAMPs*), estructuras altamente conservadas que presentan los microorganismos (67, 68). Algunos de estos PRRs incluyen los receptores tipo Toll (*toll-like receptors* – TLRs), los receptores de lectina tipo C (*C-type lectin receptors* – CLRs) o los receptores relacionados con el gen inducible por ácido retinoico (*(RIG)-I-like receptors* – RLRs) (67).

Una vez que se produce esa interacción entre PRRs y PAMPs, se inician distintas cascadas de señalización intracelular que dan lugar a la activación de factores de transcripción relacionados con la inflamación y la respuesta inmunitaria, tales como el factor nuclear kappa B (NF-kB) (69).

La respuesta inmunitaria secundaria a esa interacción entre PRRs y PAMPs actúa a múltiples niveles. Por un lado, se liberan citocinas proinflamatorias, quimiocinas, factores del complemento y de la coagulación, así como otras proteínas liberadas por células activadas, como los neutrófilos y las plaquetas (20, 66, 70). Asimismo, el endotelio vascular participa en esta respuesta inmunitaria, al aumentar la expresión de distintas proteínas de adhesión en su superficie y ensanchar las uniones comunicantes (uniones gap) entre las células del endotelio. Estos dos hechos provocan

respectivamente la adhesión de células inmunitarias del torrente sanguíneo y la extravasación de éstas al lugar donde se encuentra la infección (66, 71). Finalmente, la respuesta inmunitaria adaptativa se inicia cuando las CPAs, tales como las células dendríticas o los macrófagos, presentan diferentes antígenos del microorganismo a los linfocitos B y T, lo que da como resultado la producción de una respuesta celular y humoral (anticuerpos específicos frente al patógeno) y el desarrollo de memoria inmunológica para futuras infecciones debidas al mismo patógeno (66).

Una vez eliminado el patógeno, entrarán en juego los mecanismos de reparación a nivel local, que incluirán la reparación tisular de las estructuras dañadas, la inhibición y resolución de la inflamación y la vuelta a la homeostasis (66, 68).

Con todo esto, se puede concluir que una respuesta inmunitaria equilibrada frente a un patógeno concreto dará lugar a una reacción localizada, caracterizada por diferentes reacciones proinflamatorias, antiinflamatorias y posteriormente una reparación de las estructuras dañadas, que acaba con la eliminación del microorganismo causante y el retorno a la condición de homeostasis habitual (68). Sin embargo, como ya se ha señalado, en el caso de la sepsis, esta respuesta se vuelve sistémica, produciendo daños tisulares a distintos niveles.

Los mecanismos concretos por los que esta respuesta inmunitaria se vuelve sistémica son muy complejos y no se conocen por completo, pero se sabe que es clave la inadecuada capacidad de controlar la infección inicial y el crecimiento microbiano. Esto puede estar relacionado con factores de virulencia del patógeno (no todos los microorganismos tienen el mismo potencial para producir sepsis), inmunodeficiencias primarias o adquiridas del hospedador o una respuesta tardía frente a la infección (20, 64).

Al igual que en la sepsis, en las infecciones por SARS-CoV-2 se ha visto que un inicio temprano de la respuesta inmunitaria frente a la infección se correlaciona con un mejor control de la infección (desaparición más temprana de la carga viral), una respuesta inmunitaria autolimitada y un curso más leve de la infección, mientras que una aparición tardía de la respuesta inmunitaria se correlaciona con cargas virales más prolongadas en el tiempo (peor control de la infección), una respuesta inmunitaria innata exacerbada que se vuelve sistémica y, en definitiva, un curso más grave de la enfermedad (72).

En este sentido, la estimulación persistente del sistema inmunitario es producida no solo por los microorganismos que no consiguen ser controlados, sino también por la liberación de una serie de moléculas denominadas “alarminas” o *damage-associated molecular patterns* (DAMPs), que son capaces de activar los PRRs al igual que lo hacen

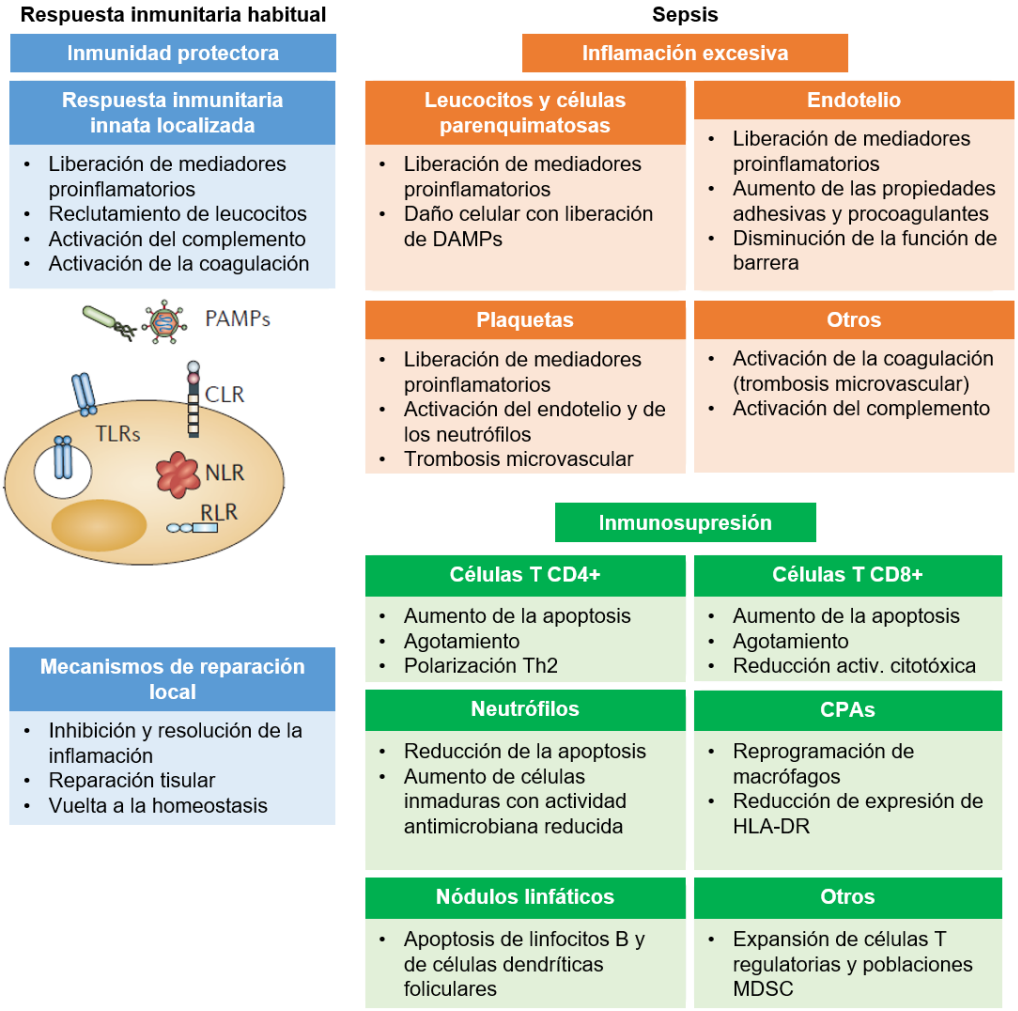
las PAMPs, dando lugar a un círculo vicioso de activación y desregulación del sistema inmunitario (46, 68).

Como se ha señalado, la activación del sistema inmunitario implica múltiples moléculas, células y rutas, como por ejemplo la vía del complemento o la activación del endotelio. Sin embargo, hay dos mecanismos fundamentales relacionados con la desregulación de la respuesta inmunitaria en la sepsis: la hiperinflamación, con una sobreproducción de citocinas proinflamatorias y especies reactivas de oxígeno (ROS), entre otras, y la inmunosupresión, que conlleva una menor eficacia de la respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa, tal y como aparece reflejado en la **Figura 3** (65, 68). La combinación de ambos mecanismos es la responsable de la disfunción y el daño tisular, así como de la mortalidad que presentan estos cuadros.

La desregulación, por tanto, presenta fundamentalmente dos caras: la respuesta proinflamatoria y la respuesta inmunosupresora (20, 64, 68). Aunque ambas respuestas se dan a la vez (73), en las fases tempranas de la sepsis la respuesta proinflamatoria es la dominante, lo que lleva a un alto riesgo de shock séptico y de muerte temprana, sobre todo debida al daño vascular, a consecuencia de una inflamación exacerbada. Por otro lado, la respuesta inmunosupresora se mantiene días después de que la respuesta proinflamatoria cesa, y se asocia con un aumento del riesgo de infecciones secundarias y de muerte debido a éstas (74).

4.2. Mecanismos proinflamatorios en la sepsis

Los mecanismos proinflamatorios implicados en la fisiopatología de la sepsis y el shock séptico podrían englobarse en tres categorías que se encuentran profundamente interconectadas: la liberación de mediadores proinflamatorios (citocinas, proteasas y ROS), la activación del complemento y de la coagulación y la activación de múltiples tipos celulares (células endoteliales y neutrófilos, entre otros) (20).



MDSC: myeloid-derived supressor cells; HLA-DR: antígeno leucocitario humano DR.

Figura 3. Resumen de los mecanismos fisiopatológicos de la sepsis (adaptado de van der Poll *et al*. (68))

Las citocinas proinflamatorias son uno de los principales mecanismos de la respuesta inmunitaria frente a las infecciones. Estos mediadores incluyen interleucinas (IL) como IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 e IL-18, quimiocinas como *C-C motif chemokine ligand 2* (CCL2) y CCL3, y otras moléculas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) o el interferón gamma (IFN-ɣ), y se liberan a consecuencia de la infección, produciendo la activación y el reclutamiento de múltiples células del sistema inmunitario al foco inflamatorio, con el objeto de combatir esa infección (75). Sin embargo, desde hace años se sabe que una liberación masiva a nivel sistémico de estas citocinas proinflamatorias (“tormenta de citocinas”) tiene un efecto perjudicial, y contribuye al daño que se produce en la sepsis. Así, diversos modelos *in vivo* en los que se expusieron a animales a una infección

bacteriana, la eliminación de esas citocinas producidas masivamente, incluyendo IL-1β, IL-12, IL-18 y TNF-α resultaba protectora frente al daño tisular y la mortalidad (75).

En cuanto a la activación endotelial, se han descrito varios mecanismos fisiopatológicos por los que los microorganismos patógenos inducen respuestas predominantemente proinflamatorias por parte de estas células. Por ejemplo, las alarminas (DAMPs) anteriormente mencionadas juegan un papel muy importante en este proceso proinflamatorio (76). Por otro lado, el endotelio contribuye a empeorar la inflamación mediante la liberación de moléculas proinflamatorias, el aumento de permeabilidad y reclutamiento de células inflamatorias (tales como monocitos) y la aparición de actividad procoagulante (76).

Una vez que las células endoteliales son estimuladas por la reacción proinflamatoria, pierden su actividad anticoagulante. Por el contrario, empiezan a promover la coagulación mediante la disminución de expresión de trombomodulina y heparán sulfato (ambos con actividad anticoagulante), así como mediante el aumento de la expresión del factor tisular (FT) en la superficie celular. El FT se comporta como un receptor para el factor VII de la coagulación, y al unirse a este factor VII, inicia la vía extrínseca de la cascada de la coagulación (77).

Finalmente, a consecuencia de la activación de la cascada de la coagulación, se produce trombina, que además de su acción directa en la coagulación, activa el receptor asociado a proteasa tipo 1 (*protease-activated receptor-1* – PAR-1). Este PAR-1 se encuentra altamente expresado en plaquetas y células endoteliales, y juega un papel importantísimo en la interacción entre la inflamación y la coagulación. La activación de PAR-1 en las células endoteliales aumenta la hiperpermeabilidad del endotelio, así como la producción de citocinas y la expresión de moléculas de adhesión (78).

En cuanto a la activación del complemento, éste constituye un componente fundamental de la inmunidad innata que actúa a múltiples niveles, opsonizando patógenos (subunidades C3b y C4b), participando en la respuesta inflamatoria (subunidades C3a, C4a y C5a) y constituyendo el complejo de ataque a la membrana (subunidades C5b, C6-C9) (66). Sin embargo, una activación descontrolada del complemento puede producir daño tisular y contribuir a la disfunción orgánica en la sepsis, fundamentalmente debido a la acción de las anafilatoxinas C3a, C4a y C5a, que reclutan y activan leucocitos, células endoteliales y plaquetas (79).

La subunidad C5a se asocia con la quimiotaxis de los neutrófilos al sitio de la infección. Mediante la unión de C5a a su receptor C5aR, los neutrófilos migrarán al tejido inflamado para ejercer sus funciones de eliminación de los patógenos y de los desechos

generados (71). A pesar de la función fisiológica de C5a, se ha visto que una activación excesiva de C5a en la sepsis conlleva un aumento de la inflamación sistémica, acompañado de apoptosis de los linfocitos y disfunción de los neutrófilos (80). Adicionalmente, cuando los niveles de C5a son muy elevados durante la sepsis, esto provoca una regulación a la baja de la expresión de C5aR, lo cual conlleva un peor pronóstico en estos pacientes (81).

En conclusión, tanto C5a como C5aR están involucrados en la inflamación relacionada con la sepsis, lo que hace que ambos sean objeto de estudio para el desarrollo de nuevos fármacos para esta patología. En este sentido, existen dos anticuerpos monoclonales (Vilobelimab (anti-C5a) y Avdoralimab (anti-C5aR)) que se están probando en ensayos clínicos para sepsis y COVID-19 (82).

En cuanto a la activación de la coagulación, es un mecanismo que, en condiciones normales, puede ser considerado como parte de la respuesta inmunitaria innata frente a los patógenos y, a tal efecto, hace años se introdujo el término de “inmunotrombosis” para ilustrar esto (83). Asimismo, diferentes elementos del sistema de la coagulación pueden desencadenar una potente respuesta inmunitaria innata, y se ha demostrado en distintos modelos de infección, que la inhibición de la coagulación puede afectar negativamente a la capacidad defensiva frente a las bacterias (84).

En condiciones normales, existe un equilibrio en nuestro organismo entre los fenómenos antitrombóticos y protrombóticos. Sin embargo, en la sepsis, esa homeostasis se altera, y la activación de la coagulación hace que se tienda a un estado protrombótico (85). Por ejemplo, una vez que los neutrófilos migran al foco inflamatorio y son activados por los PAMPs y DAMPs, dicha activación genera un estado protrombótico (71). En la sepsis, una situación de inflamación sistémica puede dar lugar a fenómenos diseminados de trombosis microvascular, con un elevado consumo de plaquetas y de factores de coagulación, que en última instancia puede desembocar en un cuadro de coagulación intravascular diseminada (CID). La CID, de forma paradójica, provocaría una coagulopatía con hemorragias asociadas, debido al consumo masivo de mediadores de la coagulación en la circulación microvascular (86).

La CID y la coagulopatía pueden contribuir al daño tisular y a la disfunción orgánica, aumentando sustancialmente la mortalidad de esta entidad (86). En ese sentido, la CID asociada a sepsis se define como una activación sistémica en la coagulación con fibrinólisis suprimida que conduce a disfunción orgánica en combinación con inflamación sistémica, y la coagulopatía inducida por sepsis se definiría en aquellos pacientes con disfunción orgánica, disminución del recuento de plaquetas y aumento de los tiempos de la coagulación, como el tiempo de protrombina (TP) (86).

Finalmente, en lo relativo a los neutrófilos, son células clave en la respuesta inmunitaria innata, constituyendo una de las partes más importantes de la primera línea de defensa contra los patógenos (66). Las infecciones bacterianas graves inducen la maduración de emergencia de los granulocitos y la liberación de un gran número de formas maduras e inmaduras de neutrófilos por parte de la médula ósea. Estas células son atraídas mediante quimiotaxis al foco inflamatorio, y una vez en él, se induce su activación, dando lugar a la liberación de proteínas y enzimas con actividad antimicrobiana presentes en sus gránulos, ROS y la liberación de las trampas extracelulares de neutrófilos (*neutrophil extracelular traps* – NETs). Estas NETs son estructuras extracelulares difusas que se componen de cromatina descondensada, histonas, péptidos antimicrobianos y proteasas (catepsina G, elastasa y mieloperoxidasa, entre otras), que son liberadas al medio extracelular formando una malla que es capaz de atrapar patógenos, incluyendo bacterias gram positivas y negativas, levaduras, virus e incluso protozoos o parásitos (87, 88), y células sanguíneas circulantes en su red (87), constituyendo un importante mecanismo de defensa frente a las infecciones, al permitir atrapar y posteriormente eliminar los patógenos que caen en estas NETs (88).

Dentro de la fisiopatología de la sepsis, los neutrófilos pueden contribuir a la hiperinflamación a través de sus mecanismos de acción bactericidas: la liberación de ROS, proteasas y la formación de NETs (20). La liberación de estas NETs puede desencadenarse por distintos mediadores, como citocinas, quimiocinas, anticuerpos o agonistas plaquetarios, como la trombina, el ADP o el colágeno (89).

Se ha visto que las NETs son un mecanismo de defensa clave y necesario en la respuesta inmunitaria innata. Algunas investigaciones llevadas a cabo en modelos animales de sepsis abdominal han señalado que la inhibición de la formación de esas NETs conduce a un aumento de la carga bacteriana en estas infecciones y a una reducción en la supervivencia (90). Sin embargo, las NETs pueden comportarse como un arma de doble filo, ya que una producción excesiva de las mismas puede provocar efectos adversos para el hospedador, entre los que se incluyen trombosis microvascular, debido al estado protrombótico que inducen (20, 71). En este sentido, distintos trabajos han señalado, por ejemplo, que las NETs y las histonas que contienen pueden llegar a dañar la microvasculatura y a activar las células endoteliales, lo cual desencadenaría la aparición de trombosis (91). Por otro lado, otros estudios han puesto de manifiesto que una cantidad excesiva de estas NETs, ya sea por hiperproducción o por una insuficiente degradación, se asocia con estados de hipercoagulabilidad y con daño endotelial en la sepsis (92, 93).

En conclusión, la respuesta proinflamatoria en la sepsis se caracteriza por una liberación excesiva de mediadores proinflamatorios por parte de múltiples tipos celulares, además de una activación del sistema del complemento, de la coagulación, del endotelio vascular y los neutrófilos. Esto finalmente genera un estado protrombótico en la circulación microvascular por mecanismos profundamente interconectados y que se retroalimentan entre sí, como la liberación de NETs, de mediadores proinflamatorios (citocinas, quimioquinas, proteasas, ROS y factor C5a) o la expresión de FT por las células endoteliales, y que al final pueden desembocar en una CID con coagulopatía asociada, con disfunción orgánica y fallo multiorgánico.

4.3. Inmunosupresión en la sepsis

Como ya se ha comentado, la inmunosupresión en los pacientes con sepsis se relaciona con una mayor susceptibilidad de estos pacientes a infecciones nosocomiales secundarias debidas a microorganismos oportunistas, lo cual implica un aumento de la mortalidad intrahospitalaria (20, 68, 94).

Entre los mecanismos fisiopatológicos más importantes, cabe destacar los que involucran a linfocitos T y aquellos que afectan a monocitos y otras CPAs (20, 68).

En cuanto a los linfocitos T, existen dos mecanismos principales que afectan a su funcionalidad, que incluyen el aumento de la apoptosis (muerte celular programada) y el agotamiento de estas células (*T cell exhaustion*). En lo relativo al aumento de apoptosis, éste afecta tanto a los linfocitos T CD4+ como a los CD8+, dando lugar a linfopenia, lo cual se relaciona con un aumento en el riesgo de infección y con la mortalidad (95). De igual modo, en distintos modelos preclínicos de sepsis se ha visto que una inhibición de esta apoptosis se relaciona con protección frente a eventos adversos, lo cual pone de manifiesto la importancia de la apoptosis en la fisiopatología de la inmunosupresión (96, 97). Hay que destacar que el aumento de la apoptosis como mecanismo de inmunosupresión en la sepsis no es un proceso exclusivo de las células T, y afecta a otras células inmunitarias, como los linfocitos B, las células *Natural Killer* (NK) y distintas CPAs como las células dendríticas foliculares o los monocitos (95).

En el caso de los linfocitos B, se ha visto que la depleción de células B en los pacientes con sepsis puede deberse tanto al aumento de la apoptosis como a la falta de estimulación por parte de los linfocitos T *helper*. Asimismo, se acompaña de un fenotipo de agotamiento en los linfocitos B supervivientes, caracterizado por una reducción en la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (CMH-II) y por un aumento de la producción de citocinas inmunosupresoras, como IL-10 (98, 99). En este caso, la

persistencia de la linfopenia, así como la disminución de los niveles de inmunoglobulinas en la sepsis se asocian con una mayor mortalidad en estos pacientes (100, 101).

Por otro lado, el problema en los linfocitos T no solo radica en la linfopenia, sino también en que los linfocitos supervivientes presentan un fenotipo disfuncional (agotamiento). Así, los linfocitos T CD8+ muestran un descenso en la capacidad de proliferación, una menor actividad citotóxica y menor producción de citocinas, como IL-2 e IFN-ɣ (95). Entre las causas relacionadas con esta funcionalidad alterada, que ahonda en el estado de inmunosupresión, caben destacar principalmente dos: el aumento de linfocitos T reguladores (Treg) y de las células supresoras derivadas de línea mieloide (*myeloid-derived supressor cells* – MDSC*s*) y, por otro lado, la molécula de muerte programada tipo 1 (*programmed death-1* – PD-1).

En lo que respecta al primer punto, se ha visto que, en los pacientes con sepsis, hay un aumento de Treg y MDSCs, lo cual contribuye a la inmunosupresión y afecta a la funcionalidad de los linfocitos T (102). En el caso concreto de las MDSCs, constituyen una población mixta de células mieloides predominantemente inmaduras, que son capaces de suprimir a las células efectoras del sistema inmunitario, especialmente a los linfocitos T (103). Además, en los pacientes con sepsis ingresados en UCI, se ha visto que el aumento de estas células se correlaciona con un mayor número de infecciones y una mayor mortalidad (104).

En cuanto a PD-1, es una proteína de membrana que pertenece a las llamadas moléculas de coestimulación (también denominadas *checkpoint regulators*), cuya función es actuar como una segunda señal cuando una célula efectora del sistema inmunitario reconoce un antígeno concreto (por ejemplo, cuando una CPA presenta un antígeno a un linfocito T). Esta segunda señal puede suponer una estimulación (regulador positivo) o una inhibición (regulador negativo) para esta célula efectora, y por ello resultan claves en la comunicación de los linfocitos T con otras células del sistema inmunitario (66). En el caso de PD-1, se comporta como un regulador negativo que ha sido muy estudiado tanto en el campo de la sepsis como en el cáncer o la inmunoterapia (105).

En la sepsis, esta interacción con PD-1 induce la apoptosis celular y la liberación de mediadores inmunosupresores. Se ha comprobado en estudios *in vitro* que, al tratar los linfocitos T CD8+ de los pacientes con sepsis con anticuerpos anti-PD-1, se reducía la apoptosis y aumentaba la producción de IFN-ɣ (106). En cambio, un aumento de expresión de PD-1 en los linfocitos T y de su ligando de unión (PD-L1) en las CPAs se relaciona con una mayor linfopenia y mortalidad en la sepsis (95). Por otro lado, hay que señalar que PD-1 no solo afecta a linfocitos T, sino que otras células inmunitarias como

los neutrófilos o los monocitos pueden expresarlo, teniendo igualmente efectos inmunosupresores. En estos tipos celulares en concreto, ese aumento de PD-1 se relaciona con una actividad fagocítica alterada que puede ser también revertida *ex vivo* mediante anticuerpos anti-PD-1 (107).

El interés por la vía de PD-1/PD-L1 ha hecho que se hayan desarrollado anticuerpos monoclonales para tratar de revertir la inmunosupresión secundaria a la sepsis mediada por esta vía. Un ejemplo de esto sería el Nivolumab, un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 que, en un ensayo clínico fase 1/2 en pacientes con sepsis mostró un buen perfil de tolerabilidad, así como un aumento en el recuento de linfocitos en los pacientes tratados con este monoclonal (108).

En monocitos y CPAs, los mecanismos fisiopatológicos que median la inmunosupresión de la sepsis serían fundamentalmente la reducción de expresión del antígeno leucocitario humano DR (HLA-DR) y la reprogramación celular (20, 68).

El HLA-DR pertenece a las moléculas del CMH-II. De forma general, el CMH es un conjunto de receptores celulares que son capaces de presentar determinadas estructuras antigénicas tanto propias como extrañas y median el reconocimiento celular. Esto permite al sistema inmunitario reconocer lo propio y distinguirlo de lo extraño, estando involucrado en la defensa habitual de nuestro cuerpo frente a las infecciones y otras amenazas, como los procesos tumorales (66). Dentro del CMH distinguimos las moléculas del CMH clase I y clase II. El CMH-I incluye los antígenos HLA-A, HLA-B y HLA-C y está presente en todas las células nucleadas, mientras que el CMH-II abarca los antígenos HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP, que solo están presentes en las CPAs (incluyendo las células dendríticas, monocitos y macrófagos, células de Langerhans y linfocitos B) (66).

Por todo esto, el HLA-DR tiene una función clave en el reconocimiento de los patógenos por parte de las CPAs. En este sentido, la reducción en los niveles de expresión de estas moléculas en las CPAs conlleva una disfunción por parte de estas células. En los pacientes con sepsis se relaciona de forma directa con la inmunosupresión, que dará lugar a una afectación en la capacidad de reconocer los patógenos, una reducción en la opsonización y una disrupción de la respuesta Th1 y Th2, esencial en la respuesta inmunitaria adaptativa (95).

En consecuencia, se ha visto que los bajos niveles de expresión de HLA-DR en los monocitos se relacionan directamente con una mayor incidencia de infecciones nosocomiales, peor evolución de los cuadros y mortalidad incrementada en los pacientes con sepsis (109, 110).

Otro de los mecanismos clave involucrado en la inmunosupresión y que afecta a monocitos y otras CPAs es la reprogramación celular, fenómeno multifactorial que incluye una afectación de la capacidad de las CPAs para producir citocinas proinflamatorias tras ser estimuladas con moléculas agonistas bacterianas (proceso denominado “tolerancia al lipopolisacárido”) (95), una reducción en los niveles de expresión de HLA-DR y cambios epigenéticos en la expresión génica (68).

El resultado de esta reprogramación celular es una reducción de la capacidad de los leucocitos para producir citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-12 o TNF-α), mientras que la capacidad de producir citocinas antiinflamatorias (como IL-10) no se ve afectada, o incluso puede verse aumentada (111). La tolerancia al lipopolisacárido puede además ser cruzada con otras moléculas que inducirían en condiciones normales una respuesta proinflamatoria, como las DAMPs o los ligandos de distintos receptores TLR, lo cual señala que los mecanismos de reprogramación de las CPAs pueden actuar a múltiples niveles (112, 113).

Finalmente, los cambios epigenéticos influyen en esta reprogramación celular. Estos cambios incluyen múltiples mecanismos que alteran los niveles de expresión de distintos genes en las células inmunitarias, como modificaciones en las histonas o cambios en la metilación del ADN celular (20, 68). Una de las modificaciones en las histonas más descritas apareció por primera vez en un estudio publicado en 2007 (114). En dicho estudio, se demostró que la trimetilación de la histona H3 lisina 4 (H3K4me3) era la base de la tolerancia inducida por lipopolisacárido en los monocitos de los pacientes con sepsis (114).

En definitiva, la inmunosupresión en la sepsis afecta al sistema inmunitario innato y adaptativo, caracterizándose por un incremento en la apoptosis de los linfocitos T y B y las CPAs, el agotamiento de los linfocitos T, y la expansión de las células Treg y las MDSCs, junto con una disfunción de las CPAs, caracterizada por una reducción de la expresión de HLA-DR y una reprogramación celular.

5. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN PRIORITARIAS

Tal y como se ha comentado en el punto 3 de esta tesis doctoral, la SSC se encarga de elaborar las guías clínicas de manejo de la sepsis y el shock séptico. Sin embargo, además de esta tarea, la SSC también desempeña otras muchas funciones para lograr su meta de reducir la morbimortalidad asociada a la sepsis y el shock séptico. Una de estas funciones es monitorizar el grado de adherencia a las guías clínicas, y evaluar si, efectivamente, el cumplir con las recomendaciones y seguir los *bundles* de la SSC se asocia con mejores desenlaces de estos cuadros. En un artículo publicado en 2010, que incluyó más de 15.000 pacientes, se estudió el grado de cumplimiento de los *bundles* y su asociación con la mortalidad hospitalaria (115), comprobando que el cumplimiento de estas medidas se asoció con una mejora continua y sostenida en la calidad del manejo de los pacientes con sepsis, reduciendo significativamente la mortalidad un 5,4% (115).

Otro estudio publicado en 2014 y que incluyó más de 29.000 pacientes a lo largo de más de siete años demostró que seguir estos *bundles* se asociaba con una mejora en la calidad de la atención que recibían los pacientes y una reducción del 25% en el riesgo de mortalidad (116). Por todo esto, se puede concluir que, efectivamente, seguir las recomendaciones incluidas en las guías de la SSC se asocia con mejores desenlaces de la sepsis y el shock séptico (115, 116).

Sin embargo, como se ha señalado, existen múltiples lagunas en cuanto al conocimiento de la sepsis, que hace que muchas de las recomendaciones contenidas en las guías tengan niveles de recomendación débiles y niveles de evidencia bajos. De hecho, del total de 93 recomendaciones que figuran en la versión de 2021, solo 15 de ellas poseen el grado de “recomendación fuerte”, ya sea a favor o en contra de una determinada práctica clínica (31). Esto refleja que aún hay muchos aspectos de esta enfermedad de los que faltan datos que permitan dar recomendaciones robustas.

Debido a esto, la SSC también señala esas lagunas de conocimiento para tratar de poner el foco sobre ellas y orientar acerca de los temas de investigación que se consideren más prioritarios en esta enfermedad. Para ello, la SSC habilitó un Comité de Investigación, específicamente diseñado para crear listas de prioridades de investigación relacionada con la sepsis. Desde la creación de este comité, se han publicado un total de seis revisiones y artículos de consenso enfocados sobre diferentes líneas prioritarias. La primera de estas revisiones, publicada en 2018, abordaba de

forma general las prioridades de investigación en la sepsis y el shock séptico (117). Tras dicha revisión, aparecieron otras que se centraban en temas más específicos, como la resucitación con fluidos y la terapia vasopresora (118), la epidemiología, estratificación e identificación de la sepsis (119), la investigación básica y traslacional (120), la infección y terapias de purificación sanguínea (121) e incluso una centrada en la COVID-19 (122).

De todas las cuestiones interesantes que se plantean en estas revisiones, hay una en particular que guarda una estrecha relación con la investigación que constituye esta tesis doctoral. Dicha cuestión es: *¿Qué procesos inmunológicos contribuyen a la recuperación de la sepsis*? (pregunta nº 5 dentro de las prioridades de investigación básica/traslacional) (120). Una línea de investigación dirigida a dar respuesta a esta pregunta sería la búsqueda de factores del hospedador asociados con una mejor o peor evolución. Se profundizará en ello en los siguientes puntos.

5.1. Identificación de biomarcadores pronósticos del hospedador

La búsqueda de estrategias destinadas a establecer los procesos inmunológicos que contribuyen a la recuperación de la sepsis (120), podría mejorar el manejo de estos pacientes por dos motivos que se encuentran interconectados. Por un lado, permitiría reducir la heterogeneidad existente en los pacientes con sepsis, diferenciando distintos perfiles de pacientes. Por otro lado, serviría para identificar biomarcadores que puedan predisponer a una mejor o peor evolución, o que hagan que esos pacientes sean subsidiarios de terapias específicas, si las hubiere. La fuente de la heterogeneidad en los pacientes con sepsis se debe a múltiples factores, desde la etiología de la infección, las comorbilidades y la genética del paciente, hasta el tiempo transcurrido hasta el diagnóstico o el tratamiento (96). Estos factores no solo influyen en la evolución del cuadro, sino también en la efectividad de las medidas terapéuticas (47).

Desafortunadamente, a pesar de que cada vez se ahonda más en el conocimiento de la variabilidad en la respuesta inmunitaria del huésped en la sepsis, esto no se ha visto reflejado en el desarrollo de tratamientos específicos para esta enfermedad. De hecho, resulta notorio que, a pesar de que se han realizado más de 100 ensayos clínicos evaluando terapias que modifiquen la respuesta inflamatoria sistémica, no se han conseguido resultados positivos en ninguno de ellos (47). Esta falta de terapias específicas efectivas, junto con la heterogeneidad de la sepsis, ha hecho que se trate de impulsar un enfoque basado en la medicina de precisión, tanto para el diagnóstico como para el tratamiento de la sepsis (123).

Para aplicar esa medicina de precisión en los pacientes con sepsis y poder mejorar los resultados de los ensayos clínicos en esta entidad, se necesita dividir a estos pacientes en distintos subgrupos, para llegar desde el "fenotipo" del paciente con sepsis al "endotipo" al que pertenece un paciente en concreto, algo que se ha intentado hacer no solo en la sepsis, sino también en otras entidades, como el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) (124). Para lograr ese objetivo, es necesario llevar a cabo estrategias denominadas como "enriquecimiento poblacional". Este enriquecimiento se refiere al uso de características medibles de los pacientes, conocidas antes de la aleatorización, para refinar las poblaciones de un determinado ensayo (123).

El enriquecimiento poblacional puede hacerse mediante la detección de características que permitan predecir el desenlace del cuadro o la respuesta al tratamiento (125). Mediante esas estrategias de enriquecimiento, pasaremos de tener una población heterogénea de pacientes a grupos homogéneos que permitan tomar actitudes terapéuticas diferentes en función de su riesgo de mortalidad, y así seleccionar a aquellos pacientes que deberían ser subsidiarios de usar terapias específicas dirigidas, tal y como ilustra la **Figura 4**.

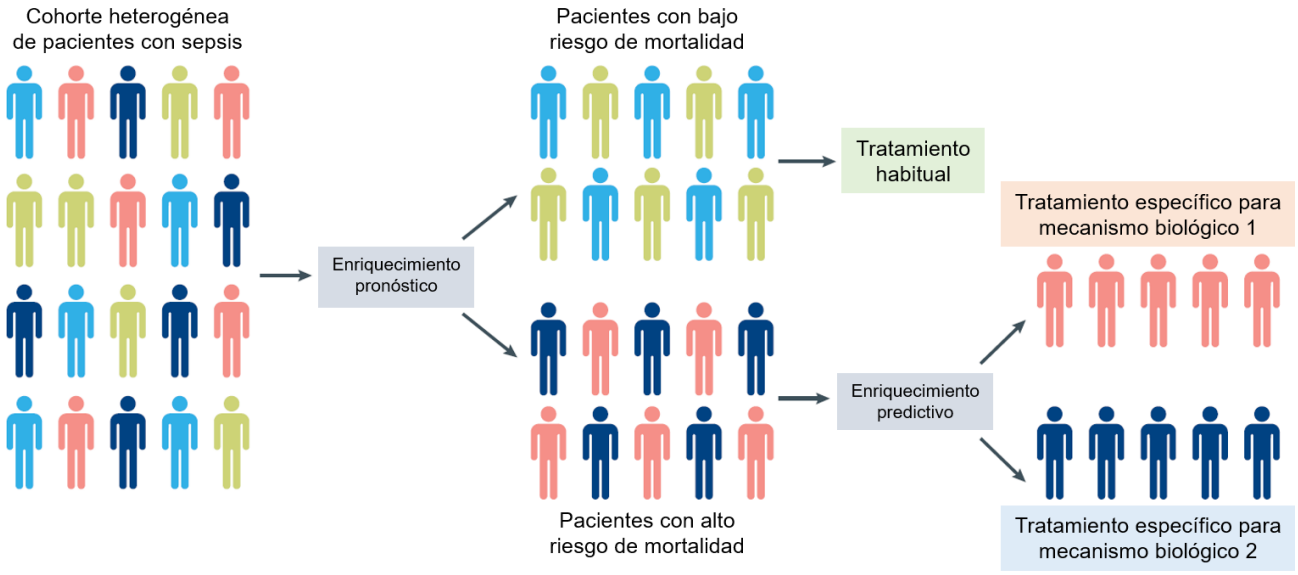


Figura 4. Esquema de enriquecimiento en los pacientes con sepsis (adaptado de Stanski *et al*. (125))

Existen distintas aproximaciones para obtener información sobre la respuesta inmunitaria del hospedador que permitan identificar subgrupos de pacientes. Algunas de ellas se basan en el empleo de Inteligencia Artificial, usando diferentes algoritmos de *machine learning*, y otras se basan en el estudio de las ómicas (como por ejemplo

genómica, transcriptómica o metabolómica). En este sentido, se han publicado multitud de estudios que reflejan que las ómicas pueden ayudar a identificar nuevos factores pronósticos en la sepsis, ya sea mediante el estudio de la metabolómica (126), la genómica (127) o la transcriptómica (124, 128-131).

En resumen, el empleo de las ómicas y en particular la genómica en los pacientes con sepsis y shock séptico podría ayudar a explicar la variabilidad en la evolución y la aparición de complicaciones (particularmente, mortalidad). Esto permitiría estratificar la gravedad de la enfermedad *a priori*, e identificar precozmente a aquellos pacientes que presentan mayor riesgo de tener una peor evolución, y por tanto son subsidiarios de medidas específicas o más agresivas. Asimismo, podría ayudar a identificar diferentes genes y potenciales dianas terapéuticas que permitan individualizar los tratamientos en estos pacientes, mejorando el desenlace de esta enfermedad.

5.2. Estudio de polimorfismos genéticos en sepsis

En la década de los ochenta surgió el Proyecto del Genoma Humano, un proyecto internacional con un objetivo simple y a la vez muy ambicioso: conocer la secuencia genética del ADN humano, así como los distintos genes que contiene nuestro genoma, identificando tanto aquellas secuencias codificantes (aquellas que codifican para producir una determinada proteína) como las no codificantes. Este proyecto surgió con el firme convencimiento de que tener una visión global de nuestro genoma podría acelerar la investigación biomédica, permitiendo a los investigadores abordar las distintas enfermedades desde un punto de vista más integral (132), y supuso un esfuerzo comunitario sin parangón en la investigación biomédica.

En el año 2001 se publicaron en la revista *Nature* los primeros datos de secuenciación y análisis de ese proyecto (132). En los siguientes años, se sucedieron múltiples esfuerzos por completar las regiones del genoma que aún no se habían podido secuenciar (fundamentalmente regiones de heterocromatina, suponiendo aproximadamente el 8% del genoma), hasta que finalmente, en abril de 2022, se publicó en la revista *Science* la secuencia completa del genoma humano (133).

Sin embargo, el primer estudio que establece la asociación entre la genética y la muerte debida a una causa infecciosa es anterior al Proyecto Genoma Humano, y data de 1988 (134). En este trabajo, se estableció que el riesgo de morir por una causa infecciosa se multiplicaba por cinco si el padre biológico había fallecido también por una causa infecciosa en los primeros 50 años de vida, estableciendo que la genética condicionaba un riesgo muy importante en lo relativo a las enfermedades infecciosas.

En las últimas dos décadas, la investigación relativa al estudio de la relación entre la genética y las enfermedades ha experimentado enormes avances (135). El desarrollo exponencial de las técnicas de secuenciación genética y genotipado se ha beneficiado de la introducción de tecnologías cada vez más avanzadas, lo que ha hecho que en la actualidad muchos grupos de estudio hayan incorporado estas herramientas, habiendo pasado del empleo de la secuenciación por Sanger a las nuevas técnicas de secuenciación masiva (*next generation sequencing* – NGS).

A nivel genómico, un enfoque que se utiliza frecuentemente para entender cómo las variaciones genéticas pueden ser factores de riesgo y contribuir a la enfermedad serían los estudios de asociación de genoma completo *(genome wide association studies* – GWAS). En esencia, los estudios de GWAS implican analizar los genomas de muchas personas que padecen una enfermedad, y compararlos con otra población cuya única diferencia es la ausencia de dicha enfermedad. Comparando los genomas de ambas poblaciones, se pueden, por ejemplo, localizar las variaciones genéticas que puedan estar involucradas en la aparición de dicha enfermedad.

Gracias a estos estudios de GWAS, se han conseguido localizar variaciones genéticas que se relacionan con distintas enfermedades, tales como la diabetes mellitus tipo II y algunas enfermedades autoinmunes, como la enfermedad de Crohn (136), entre otras. Respecto a la sepsis, el estudio de variaciones en regiones del genoma asociadas con la respuesta inmunitaria innata y adaptativa permitiría la investigación de la susceptibilidad genética en la evolución clínica de la sepsis (137), así como identificar las variantes o polimorfismos genéticos relacionados con una peor evolución (138). De este modo, sería posible desarrollar estrategias de prevención y tratamientos específicos en base a esas variaciones genéticas.

Los polimorfismos de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphisms* – SNPs) son la fuente más común de variación genética en nuestro genoma y suponen el cambio de una sola base nitrogenada de un nucleótido en una posición concreta de nuestro genoma. El origen de estos cambios es muy variado, pudiendo darse por sustituciones de bases, deleciones o inserciones en el genoma. Se diferencian de las mutaciones puntuales en que la frecuencia de dicho SNP en la población general es superior al 1%, y se estima que, en nuestro genoma, hay al menos un SNP por cada 1000 pares de bases. Para hacer referencia a un SNP determinado, la nomenclatura habitual es usar las letras “rs”, seguidas del número de dicho SNP, por ejemplo: el SNP rs12980275 del gen *IFNL3*.

La presencia de un determinado SNP en el genoma puede asociarse con muy diferentes cambios, como, por ejemplo, producir una deficiencia total de la producción

de una proteína, la síntesis de una proteína disfuncional o un cambio en los niveles de expresión de dicha proteína. Sin embargo, la mayoría (aproximadamente un 93%) de los SNPs identificados en los estudios de GWAS se encuentran en regiones no codificantes, lo cual dificulta entender su repercusión funcional (136).

Diversos estudios han sugerido que un alto porcentaje de estos SNPs están relacionados con mecanismos de regulación transcripcional (regulación de la expresión génica), incluyendo la modulación de los promotores y elementos potenciadores y el enriquecimiento dentro de los loci de rasgos cuantitativos de expresión (*expression quantitative trait loci* – eQTL) (136, 139). Por otro lado, es necesario señalar que no todos los SNPs tienen un impacto funcional o una asociación con una patología determinada, y algunos de ellos solo tienen repercusión en presencia de otras condiciones ambientales. Un ejemplo de esto lo encontraríamos en el SNP rs1495741 del gen *NAT2* y su relación con el cáncer de vejiga, ya que el papel de este SNP en dicha neoplasia solo se hace evidente en los pacientes que son fumadores (140).

En definitiva, aunque los estudios de GWAS han identificado miles de loci y diferentes SNPs asociados con enfermedades humanas y rasgos complejos, la mayoría de esos SNPs no suelen estar en regiones codificantes de genes, pero sí intervienen en su funcionalidad (regiones reguladoras). Por ello, generalmente es complicado encontrar los genes diana a los que afectan, lo cual limita la traducción de estos hallazgos en descubrimientos que puedan mejorar el tratamiento de dichas enfermedades. A consecuencia de todo esto, aún es necesario encontrar nuevas estrategias para tratar de establecer la relación entre un determinado SNP y un gen, y comprender mejor las distintas causas genéticas de las enfermedades (139).

En lo relativo a la sepsis, diversos estudios han relacionado la presencia de polimorfismos genéticos con la respuesta inmunitaria y distintos desenlaces, como la aparición de sepsis y shock séptico o de complicaciones derivadas de estos cuadros (138, 141). En este sentido, algunos de los genes estudiados por su posible implicación en la etiopatogenia de la enfermedad han sido los de distintos receptores de la respuesta inmunitaria innata (como los TLRs), otros receptores celulares (CD14), citocinas proinflamatorias (como IL-6 o TNFα), antiinflamatorias (IL-10), factores de transcripción (como NF-kB) y factores de la coagulación (137, 138, 141-143). Muchos de estos estudios emplean el método de análisis de genes candidatos, tratando de determinar la relación entre una variante genética con una enfermedad y así buscar el aumento o reducción de riesgo determinado por ser portador de un determinado genotipo de un polimorfismo genético concreto.

Como se ha comentado en el punto 2 de esta tesis doctoral, la sepsis y el shock séptico se asocian con una elevada morbimortalidad. Debido a esto, y teniendo en cuenta que la presencia de polimorfismos genéticos puede estar relacionado con la gravedad de estos cuadros (141), el estudio de estos polimorfismos podría ser clave a la hora de ayudar a predecir los distintos desenlaces. Por ejemplo, para los pacientes que vayan a ser sometidos a cirugías importantes, el estudio de su perfil genético y el empleo de modelos predictivos de mortalidad podría ayudar a sus médicos a identificar a aquellos pacientes con un mayor riesgo de muerte debida a shock séptico en caso de que se infecten después de dicha cirugía, y que puedan por tanto ser subsidiarios de medidas más tempranas o agresivas para evitar este desenlace (143-146). En última instancia, esto permitiría individualizar el tratamiento que reciben estos pacientes y mejorar su pronóstico (125).

5.3. Polimorfismos genéticos estudiados en esta tesis doctoral

El objetivo de los cuatro trabajos que componen esta tesis doctoral fue estudiar la asociación de determinados SNPs en genes relacionados con la respuesta inmunitaria y el reconocimiento celular, con la mortalidad en 175 pacientes con shock séptico que habían sido sometidos a cirugía mayor. La cirugía mayor se definió como cualquier procedimiento quirúrgico (cirugía cardíaca o abdominal), realizado bajo anestesia general y con asistencia respiratoria. En todos estos pacientes, la presencia de infección fue confirmada microbiológicamente tras la cirugía.

Se seleccionaron genes considerados relevantes en la respuesta inmunitaria y/o significativamente expresados de manera diferencial en sangre completa de pacientes sépticos en comparación con pacientes no sépticos, según un trabajo colaborativo anterior realizado por nuestro grupo (129). Para la selección de SNPs, en primer lugar, se utilizó la base de datos rSNPBase (147) (http:// rsnp.psych.ac.cn/), una base de datos que suministra información sobre SNPs reguladores a lo largo del genoma humano con referencia a elementos reguladores identificados experimentalmente. En primer lugar, se seleccionaron los SNPs involucrados en regiones de regulación proximal en sangre (regiones de cromatina abierta, sitios de unión de factores de transcripción, marcadores de histonas o regiones CpG). Posteriormente, se seleccionaron aquellos SNPs con una frecuencia alélica menor (MAF) superior al 15% de la población europea, para detectar diferencias en base al tamaño muestral de nuestra población de estudio. Después, se seleccionaron tagSNPs para aquellos grupos de SNP con fuerte desequilibrio de ligamiento (LD) de acuerdo con el criterio de r^2 por pares ($r^2 > 0.8$), es decir, se seleccionó un SNP representativo del conjunto de SNPs ubicados en una región con alto LD, evitando seleccionar varios SNPs que suministren información similar. Una vez

genotipados los SNPs seleccionados, se comprobó que los SNPs no presentaran desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (*Hardy-Weinberg equilibrium* – HWE). Asimismo, tras el análisis estadístico de los datos se aplicó una corrección para comparaciones múltiples cuando fue oportuno, mediante el procedimiento de Bonferroni o de Benjamini y Hochberg), para evitar la aparición de asociaciones espurias y falsos positivos.

Los polimorfismos y genes estudiados se resumen a continuación:

- ***Interferón Lambda 3 (IFNL3)***: la familia del interferón lambda (IFNL o IFN-λ, también llamado IFN tipo III) se compone de cuatro tipos de IFNL, denominados IFNL1-4 (148). El interferón lambda 3 (IFNL3), que anteriormente se denominaba interleucina 28B (IL-28B), es una citocina cuya función es modular la respuesta inmunitaria dirigida frente a patógenos virales y bacterianos (149). El IFNL3 actúa mediante la unión a su receptor (IFNLR1), que se expresa principalmente en células epiteliales y diferentes células inmunitarias, siendo capaz de inducir la expresión de más de 300 genes estimulados por interferón (*interferon stimulated genes* – *ISGs*) (148, 149). La mayoría de los estudios publicados en relación con IFNL3 se centran en su papel en la respuesta antiviral, pero también juega un importante papel en la respuesta inmunitaria contra bacterias.

  En el caso de la sepsis, algunos autores han encontrado que los niveles elevados de IFNL3 en los pacientes con sepsis se relacionaban con una mayor mortalidad y que, en modelos animales, la suplementación con IFNL3 se relacionaba con peores desenlaces del cuadro, mientras que el uso de anticuerpos anti-IFNL3 se asociaba con una mayor supervivencia (150), pudiendo por tanto ser un objetivo terapéutico para la sepsis.

  En cuanto al impacto clínico de los SNPs en el gen *IFNL3*, la mayoría de lo que hay publicado se centra en la relación entre la presencia de estos SNPs y el aclaramiento espontáneo de las infecciones por el virus de la hepatitis C (VHC) (151) o con el pronóstico de otras infecciones virales, como las debidas a Citomegalovirus (CMV), virus BK o el virus del herpes simplex (VHS) (148).

  Los tres SNPs más frecuentemente descritos en la literatura serían rs12980275, rs12979860 y rs809991. Dichos SNPs presentan un elevado LD entre sí, así como con otros SNPs en otros genes de IFNL, como IFNL4 (152).

  Para nuestro estudio, se seleccionó el SNP rs12980275.

- ***Olfactomedina 4 (OLFM4)***: la olfactomedina 4 (OLFM4) es una proteína granular específica de los neutrófilos, que se encuentra en aproximadamente un 20-25% de estas células, considerándose por ello un marcador de subpoblaciones de neutrófilos

(153). La función concreta de la OLFM4 no se conoce del todo, pero se ha visto que los niveles de esta proteína se correlacionan con una mayor formación de NETs por parte de estas células (153). Asimismo, se sabe que, en los neutrófilos la OLFM4 inhibe la activación de muchas proteasas granulares, como la elastasa o las catepsinas (154).

La expresión de *OLFM4* está regulada por el factor de transcripción nuclear NF-kB, una pieza clave en la respuesta inflamatoria, incluyendo la sepsis y el shock séptico (155). Además, se ha visto que precisamente en la sepsis la expresión de *OLFM4* está aumentada, lo cual puede contribuir a su etiopatogenia (129, 156). De hecho, algunos autores han demostrado que la presencia de un mayor porcentaje de neutrófilos OLFM4+ se relaciona con una mayor mortalidad en el shock séptico (157).

Los siete SNPs de *OLFM4* seleccionados para nuestro estudio fueron rs9536339, rs1891944, rs9563130, rs9536343, rs17552047, rs2298229 y rs12552.

- ***Molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 7 (CEACAM7)***: las moléculas de adhesión celular relacionadas con el antígeno carcinoembrionario (*Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules* – CEACAM), son glicoproteínas relacionadas estructuralmente con las inmunoglobulinas que intervienen en diversos procesos celulares, como la proliferación, la diferenciación, la adhesión y la supervivencia (158).

  Los genes de la familia CEACAM se expresan en múltiples tipos celulares, incluyendo células epiteliales, endoteliales y del sistema inmunitario, como los neutrófilos y los macrófagos (159, 160). Algunos estudios han demostrado que estas proteínas pueden actuar también como lugar de unión para diferentes bacterias, permitiendo así su adhesión y posterior invasión tisular (161). Por otro lado, otros autores han propuesto que varios miembros de esta familia podrían desempeñar un importante papel en la respuesta inmunitaria innata, principalmente debido a que pueden actuar como receptores para distintos patógenos (160, 162, 163).

  En cuanto al gen *CEACAM7*, éste codifica una proteína que regula la diferenciación celular normal y se expresa principalmente en las células epiteliales, especialmente en los conductos pancreáticos y en las células colorrectales, estando íntimamente relacionada con el carcinoma colorrectal (164). En lo que respecta a la sepsis, algunos estudios de transcriptómica han encontrado que la expresión del gen *CEACAM7* en sangre periférica se encontraba significativamente aumentada en los pacientes, comparado con un grupo control (pacientes sin sepsis) (129).

  Se seleccionaron cuatro SNPs de *CEACAM7*: rs1001578, rs10409040, rs59654817 y rs889365.

- ***Receptor tipo 1 de la Interleucina 1 (IL-1R1)***: la familia de receptores de la interleucina 1 (IL-1R) está constituida por diez miembros estrechamente relacionados con la respuesta inmunitaria innata frente a las infecciones. Dentro de esta familia, el receptor de IL-1 tipo 1 (IL-1R1) se expresa en multitud de células, como los linfocitos T, células epiteliales y del endotelio, así como en los fibroblastos (165, 166). En estos tipos celulares, IL-1R1 es el responsable de la respuesta inflamatoria inducida por sus ligandos agonistas (IL-1α e IL-1β), que ejercen su efecto proinflamatorio mediante la unión a dicho receptor (165, 166).

  La IL-1β es una de las citocinas proinflamatorias más importantes, estando directamente involucrada en la fisiopatología proinflamatoria de la sepsis (20, 68, 75). La regulación de la actividad proinflamatoria de IL-1 sucede a varios niveles, como, por ejemplo, mediante el antagonista del receptor tipo 1 de la IL-1 (IL-1RA), que inhibe la respuesta proinflamatoria mediada por este receptor (165-167).

  En lo que respecta a la relación entre IL-1R1 y la sepsis, algunos autores han encontrado que los niveles de expresión de *IL-1R1* son significativamente mayores en pacientes sépticos, comparados con pacientes sin sepsis (129).

  Los SNPs de *IL-1R1* que fueron finalmente seleccionados fueron tres: rs2110726, rs3917225 y rs6755229.

V. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

La hipótesis de este trabajo es que la presencia de SNPs en genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata frente a patógenos podría aumentar el riesgo de mortalidad en pacientes que desarrollan sepsis o shock séptico después de una cirugía mayor. En consecuencia, no solo las variables epidemiológicas y clínicas de estos pacientes (edad, sexo, comorbilidades) contribuirían a la supervivencia de los pacientes con shock séptico, sino también la presencia de dichos polimorfismos.

Objetivos

- Evaluar la relación entre estos polimorfismos en los genes seleccionados (*IFNL3*, *OLFM4*, *CEACAM7* e *IL-1R1*) y la mortalidad en estos pacientes mediante análisis de supervivencia, empleando curvas de Kaplan-Meier y regresión de Cox multivariante.
- Evaluar la viabilidad (en base a los resultados obtenidos) de la construcción de un modelo predictivo de mortalidad en estos pacientes que emplee variables clínicas y polimorfismos genéticos.

VI. RESULTADOS

Artículo 1

IFNL3 rs12980275 polymorphism predicts septic shock-related death in patients undergoing major surgery: a retrospective study

(Front Med (Lausanne). 2020 May 14;7:186)

En este trabajo, se analizó el valor del polimorfismo rs12980275 del gen del Interferón Lambda 3 (*IFNL3*) como predictor de mortalidad asociada a shock séptico en estos pacientes.

Para ello, se realizó un estudio retrospectivo sobre muestras de sangre periférica de 172 pacientes que habían sido sometidos a cirugía mayor (cardíaca o abdominal) y habían desarrollado un shock séptico con posterioridad a la cirugía. Para los estudios de asociación genética se emplearon modelos de herencia recesivo, dominante y aditivo. Se llevó a cabo un estudio de supervivencia a 28 días mediante análisis de Kaplan-Meier y regresión de Cox sobre estos pacientes para evaluar la relación entre dicho polimorfismo y la mortalidad. La regresión de Cox se ajustó por las covariables clínicas y epidemiológicas más significativas, empleando un modelo de regresión por pasos.

El análisis de Kaplan-Meier reveló que los pacientes con el alelo A presentaron mayor supervivencia, mientras que la presencia del alelo G se asoció con una mayor mortalidad (p=0,003). La regresión de Cox ajustada por las variables clínicas y epidemiológicas más relevantes confirmaron que la presencia del alelo G se asoció de manera significativa con mayor riesgo de mortalidad (*adjusted hazard ratio* – aHR=1,50, p=0,030, respectivamente).

En definitiva, la presencia del polimorfismo rs12980275 en el gen de *IFNL3* se relacionó con mortalidad asociada a shock séptico. En concreto, el alelo A en dicho polimorfismo se asoció con protección, mientras que el alelo G se asoció con un mayor riesgo de mortalidad.

frontiers in Medicine

BRIEF RESEARCH REPORT
published: 14 May 2020
doi: 10.3389/fmed.2020.00186

IFNL3 rs12980275 Polymorphism Predicts Septic Shock-Related Death in Patients Undergoing Major Surgery: A Retrospective Study

Felipe Pérez-García[1], Maria Ángeles Jiménez-Sousa[1], Susana Soria[2], Pablo Jorge-Monjas[2], Amanda Fernández-Rodríguez[1], Esther Gómez-Sánchez[2], María Heredia-Rodríguez[2], Estefanía Gómez-Pesquera[2], Pedro Martínez-Paz[3], Eduardo Tamayo[2†] and Salvador Resino[1*†] on behalf of Group of Biomedical Research in Critical Care Medicine (BioCritic)*

[1] Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain, [2] Departamento de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain, [3] Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain

Interferon lambda 3 (IFNL3, previously called IL-28B) is a cytokine with effects against viral and bacterial pathogens. We aimed to analyze the *IFNL3* rs12980275 SNP in patients who underwent major surgery, in order to establish its relationship with susceptibility to septic shock and septic shock-related death in these patients. We performed a case-control study on 376 patients to establish the association between *IFNL3* rs12980275 SNP and the susceptibility to develop septic shock. Besides, we performed a longitudinal study among 172 septic shock patients using survival analysis with one censoring point of 28-days mortality. The *IFNL3* rs12980275 polymorphism was genotyped by Agena Bioscience's MassARRAY platform. *IFNL3* rs12980275 polymorphism was not associated with higher susceptibility to infection and septic shock development. Regarding survival analysis, the Kaplan–Meier analysis showed that patients with *IFNL3* rs12980275 AA genotype had higher survival than patients with GG genotype ($p = 0.003$). The Cox regression analysis adjusted by the most relevant clinical and epidemiological characteristics showed that the GG genotype (recessive model) and the presence of the G allele (additive model) were associated with higher risk of death [adjusted hazard ratio (aHR) = 2.15, $p = 0.034$; aHR = 1.50, $p = 0.030$, respectively]. In conclusion, *IFNL3* rs12980275 polymorphism was associated with septic shock-related death in patients who underwent major surgery. The A allele was linked to protection, and the G allele was associated with an increased risk of death. This is a first preliminary study that suggests for the first time a role of *IFNL3* polymorphisms in the prognosis of septic shock.

Keywords: IFNL3, rs12980275, SNP, sepsis, septic shock, survival, major surgery

OPEN ACCESS

Edited by:
Mikhail Kirov, Northern State Medical University, Russia

Reviewed by:
Artem N. Kuzovlev, Research Institute General Resuscitation im.V.A.Negovskogo, Russia
Zsolt Molnár, University of Szeged, Hungary

***Correspondence:**
Maria Ángeles Jiménez-Sousa
jimenezsousa@isciii.es
Salvador Resino
sresino@isciii.es

†These authors have contributed equally to this work

Specialty section:
This article was submitted to Intensive Care Medicine and Anesthesiology, a section of the journal Frontiers in Medicine

Received: *04 December 2019*
Accepted: *20 April 2020*
Published: *14 May 2020*

Citation:
Pérez-García F, Jiménez-Sousa MÁ, Soria S, Jorge-Monjas P, Fernández-Rodríguez A, Gómez-Sánchez E, Heredia-Rodríguez M, Gómez-Pesquera E, Martínez-Paz P, Tamayo E and Resino S (2020) IFNL3 rs12980275 Polymorphism Predicts Septic Shock-Related Death in Patients Undergoing Major Surgery: A Retrospective Study. Front. Med. 7:186. doi: 10.3389/fmed.2020.00186

INTRODUCTION

Sepsis is a life-threatening disease, defined as a syndrome of organ dysfunction due to a dysregulated host response to an infection (1). Septic shock is defined as the most severe stage of sepsis, in which the underlying circulatory, cellular, and metabolic abnormalities are enough to increase mortality (1). In the last years, the incidence of sepsis has grown worldwide and has been reported as the most common cause of Intensive Care Unit (ICU) admission (2). This disease affects more frequently elderly patients, being especially common in patients with cancer or underlying immunosuppression (3). Regarding the incidence of sepsis, a recently published study estimated the incidence of sepsis about 48.9 million worldwide, estimating also sepsis-related death in 11 million (4). Although sepsis-related death is decreasing in the last years (4, 5), it remains unacceptably high, accounting as the most frequent cause of death in ICU patients, and constituting a significant cost for healthcare systems (6). An early and accurate diagnosis, in addition to adequate treatment, are crucial elements to reduce sepsis development (7). Moreover, the research of predictors of morbidity and mortality constitutes a priority in order to provide adequate management of patients with sepsis (8).

Sepsis is related to an inadequate immune response due to excessive inflammation that leads to organ dysfunction and multi-organ failure in the most severe cases (9). There are several pro-inflammatory cytokines (such as TNF, IL-1, IL-6, and IL-17), cell surface markers (for example, CD14) and transcription factors [nuclear factor-kappaB (NF-κB)] that are involved in the inflammatory response against infection and are also related to the pathophysiology of sepsis (9–11). The interferon lambda (IFNL or IFN-λ, also called type III IFN) family is composed of four IFNLs, IFNL1–4 (12). Interferon lambda 3 (IFNL3, previously called IL-28B) is a cytokine that modulates the immune response against viral and bacterial pathogens (12, 13). IFNL3 acts through its receptor (IFNLR1), which is mostly expressed by cells of epithelial origin and immune cells, inducing the expression of over 300 interferon-stimulated-genes (ISGs) (12, 13).

The vast majority of published research has focused on the contribution of IFNL3 to the anti-viral host defense, but IFNL3 has also been implicated in the anti-bacterial immune responses such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Listeria monocytogenes* (13). Planet *et al.* (14) found that infection with the influenza virus and the subsequent activation of the IFNL3 signaling pathway led to an increased susceptibility to pulmonary infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Luo *et al.* (15) showed that IFNL3 levels were significantly higher in patients with sepsis and septic shock patients that died, compared with healthy controls and septic shock survivors, respectively. Besides, these authors showed in experimental septic models that the supplementation with IFNL3 worsened the outcome of sepsis, and the neutralization of IFNL3 activity with specific antibodies increased the sepsis survival and a decrease in neutrophil infiltration, (15). Additionally, Cohen and Prince (16) showed mice lacking IFNLR, when compared with controls, significantly improved the clearance of *S. aureus* and *P. aeruginosa,* and that it was also associated with a decrease in the duration of the inflammatory response.

The clinical impact of single nucleotide polymorphisms (SNPs) at the *IFNL3* gene has been described principally in the context of hepatitis C, being rs12979860, rs8099917, and rs12980275 the most-frequently related to spontaneous hepatitis C virus (HCV) clearance (17). These *IFNL3* SNPs are in high linkage disequilibrium (LD) between them and with other SNPs in *IFNL4* (12, 18). Moreover, *IFNL3* SNPs have also been associated with the prognosis of different viral infections (12), such as Andes virus, BK virus, cytomegalovirus, herpes simplex virus (HSV), and human T-lymphotropic leukemia virus (HTLV) type I, among others. However, the association of *IFNL3* SNPs with the dysregulated inflammatory response in patients with sepsis has not been reported so far.

Our study aimed to analyze the *IFNL3* rs12980275 SNP in patients who underwent major surgery in order to establish its relationship with susceptibility to septic shock and septic shock-related death.

MATERIALS AND METHODS

Patients

We performed a case-control study, including patients from the Hospital Clínico Universitario of Valladolid (Spain). The study population consisted of patients that underwent major surgery, which was defined as any surgical procedure (abdominal or cardiac) that was performed under general anesthesia and respiratory assistance. A total of 376 patients were selected between April 2008 and November 2012 and stratified as follows: (a) 172 patients who developed an infection after the surgery (with positive culture) and a subsequent septic shock (SS-group); (b) 204 patients without infection but who developed a systemic inflammatory response syndrome (SIRS-group), which is a frequent condition after this kind of surgeries. Additionally, the survival at 28-day was analyzed in patients belonging to the SS-group.

The study was conducted according to the ethical requirements established by the Declaration of Helsinki. The Ethics Committee of Hospital Clínico Universitario de Valladolid and Instituto de Salud Carlos III approved the study. Written informed consent was provided by all participants before sample collection. When a patient was unable to sign, a family member or legal representative of the patient signed the consent.

Clinical Data

Epidemiological and clinical data were retrieved from medical records. Emergency surgery was indicated for life-threatening conditions such as aortic dissection, heart and postoperative bleeding, and intestinal perforation.

Septic shock and SIRS diagnoses were established according to SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference criteria (19), which was in effect when the data and samples were collected. Subsequently, we updated them according to Sepsis-3 definitions (20). The septic shock diagnosis was made during the entire follow-up time post-surgery, and

it was defined as an acute circulatory failure with persistent arterial hypotension that required vasopressor to maintain a mean arterial pressure of 65 mmHg or greater and serum lactate level greater than 18 mg/dL. SIRS diagnosis was made within the first 24 h post-surgery, as an inflammatory response to a noninfectious cause, and therefore, the infection in this group was ruled out. We selected the SIRS group as a control group with similar age and gender, which underwent to the same conditions as the case group (major surgery), but they did not develop sepsis. Finally, we confirmed that no patient had infection before major surgical intervention and all septic shock patients had a microbiologically confirmed infection.

Moreover, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II score) and Sequential Organ Failure Assessment (SOFA score) were calculated for both groups, in order to assess the severity of the condition within the first 24 h following septic shock diagnosis. The choice of the most appropriate antibiotic therapy, as empiric treatment for sepsis, was based on our experience regarding the most common bacterial pathogens associated with sepsis in our medical ICU, and also according to international guidelines (21).

DNA Genotyping

Blood samples for DNA genotyping were collected from all patients who underwent major surgery between 2008 and 2012. Total DNA from peripheral blood was extracted using the High Pure PCR Template Preparation kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). The rs12980275 SNP the was genotyped at the Spanish National Genotyping Center (CeGen; http://www.cegen.org/) by the Agena Bioscience's MassARRAY platform (San Diego, CA, USA) using the iPLEX® Gold assay design system (https://agenabio.com/products/massarray-dx/).

Outcome Variables

We analyzed two main outcome variables: (i) susceptibility to develop septic shock (case-control study); (ii) mortality after diagnosis of septic shock (longitudinal sub-study) with one censoring point at 28-days, which is a commonly used primary endpoint for clinical trials that study the usefulness of new therapeutic approaches in severe sepsis patients (22).

Statistical Analysis

Quantitative variables were expressed as the median and interquartile range (IQR), and categorical variables were expressed as absolute count (percentage). Comparisons between groups in the descriptive analysis of the study population were made using the Mann-Whitney *U*-test for continuous variables and the Chi-squared or two-tailed Fisher's exact test for categorical variables. A $p \leq 0.05$ was considered significant. The *IFNL3* SNP was analyzed for deviation from the Hardy–Weinberg equilibrium (HWE), where $p < 0.05$ was considered to be statistically significant.

Regarding the genetic association study, analyses were carried out for dominant, recessive and additive models. In the case-control study (Septic shock-group vs. SIRS-group), logistic regression was performed to investigate the association between *IFNL3* SNP and the development of septic shock. In the longitudinal sub-study, a survival analysis was used to evaluate mortality at 28 days after septic shock diagnosis. Survival probabilities were estimated by the Kaplan–Meier product-limit method, and groups were compared using the log-rank test. The multivariate Cox regression test was adjusted by the most significant covariates, which were selected by a stepwise method (forward), from the following variables: age, gender, antibiotic treatment, peritonitis, hypertension, lactate, comorbidities [obesity, diabetes, chronic kidney disease, heart disease, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), cancer, and liver disease], SOFA score, and type of surgery (emergency vs. scheduled; cardiac vs. abdominal). Statistical analysis was performed using Stata/IC 13.1 (StataCorp, Texas, USA).

TABLE 1 | Demographic and clinical characteristics of patients with SIRS (SIRS-group) and with septic shock (SS group) who underwent major surgery.

Characteristics	SIRS-group	SS-group	*p*-value
No. of patients	204	172	–
Gender (male)	130 (63.7%)	110 (64.0%)	1.000
Age (years)	72 (65–78)	74 (63–80)	0.526
Underlying conditions			
Smoker	26 (12.8%)	30 (17.4%)	0.245
Alcoholism	6 (2.9%)	10 (5.8%)	0.204
Obesity	22 (10.8%)	26 (15.1%)	0.219
Diabetes	40 (19.6%)	22 (12.8%)	0.094
Heart disease	118 (57.8%)	79 (45.9%)	**0.023**
COPD	29 (14.2%)	28 (16.3%)	0.665
Hypertension	123 (60.3%)	96 (55.8%)	0.402
Chronic kidney disease	12 (5.9%)	27 (15.7%)	**0.002**
Cancer	76 (37.3%)	41 (23.8%)	**0.005**
Liver disease	3 (1.5%)	7 (4.1%)	0.196
Type of surgery			
Cardiac (vs. abdominal)	112 (54.9%)	71 (41.3%)	**0.010**
Emergency (vs. scheduled)	19 (9.3%)	107 (62.2%)	**<0.001**
Severity indexes			
SOFA score	3 (3, 4)	9 (7–11)	**<0.001**
APACHE II score	9 (8–10)	17 (13–20)	**<0.001**

*Statistics: Values are expressed as median (percentile 25-percentile 75) and absolute count (percentage). *P-values were calculated by Fisher's exact test for categorical variables and Mann-Whitney test for continuous variables. Significant differences are shown in bold. Abbreviations: SIRS, systemic inflammatory response syndrome; p-value, level of significance; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease; SOFA, sequential organ failure assessment; APACHE, acute physiology and chronic health evaluation.*

RESULTS

Susceptibility to Septic Shock

The demographic and clinical characteristics of the selected 376 patients are summarized in **Table 1**. Briefly, patients of the SS-group ($n = 172$) had higher percentages of chronic kidney disease, higher values of SOFA and APACHE II score, and required abdominal and emergency surgery more frequently.

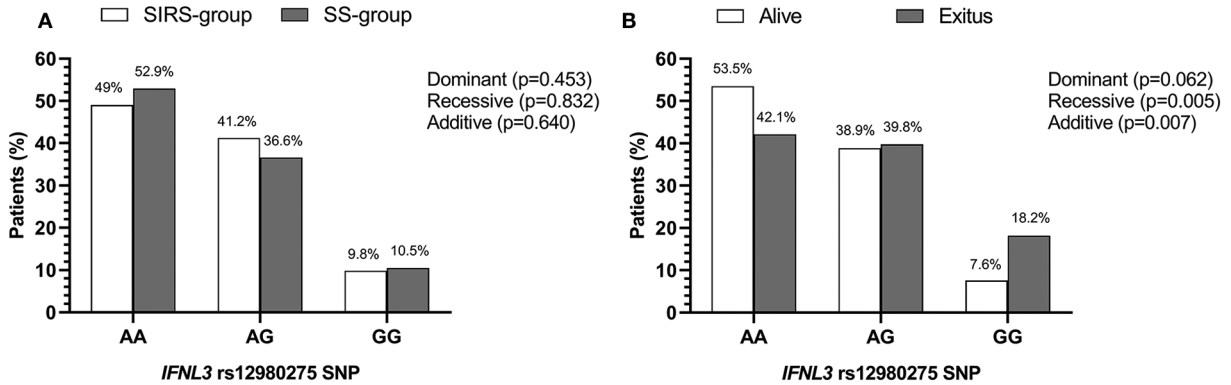


FIGURE 1 | Genetic association of *IFNL3* rs12980275 polymorphism with susceptibility to septic shock and shock-related death in patients who underwent major cardiac or abdominal surgery. **(A)** SIRS-group vs. SS-group. **(B)** Alive vs. exitus patients. Statistics: *P*-value was calculated by logistic regression analysis. Abbreviations: IFNL3, Interferon lambda 3; SIRS, systemic inflammatory response syndrome; SS, septic shock; SNP, single nucleotide polymorphism.

On the other hand, patients of the SIRS-group ($n = 204$) presented higher percentages of heart disease, cancer, and cardiac surgery.

The rs12980275 polymorphism had a minor allelic frequency (G vs. A) higher than 10% and fulfilled the HWE ($p > 0.05$). The genotypic frequencies of *IFNL3* rs12980275 polymorphism were very similar between the SS-group and the SIRS-group (**Figure 1A**).

The rs12980275 polymorphism was not associated with susceptibility to the development of septic shock, regardless of the inheritance model analyzed. For this reason, it was omitted from the multivariate logistic regression analysis.

Risk of Death in Patients With Septic Shock

The baseline characteristics of septic shock patients stratified by alive vs. exitus are shown in **Supplementary Table 1**. Patients who died were older, had higher lactate values and SOFA and APACHE II scores, and higher percentages of emergency surgery and chronic kidney disease ($p < 0.05$). Ninety-seven percent of patients had adequate initial empirical treatment according to the antibiogram data. Moreover, all patients survived in the SIRS group during the follow-up period (28 days).

The genotypic frequency of *IFNL3* rs12980275 polymorphism was different between alive and dead patients with septic shock during the first 28 days after septic shock diagnosis (**Figure 1B**), according to the three inheritance models analyzed, which suggests an association of this polymorphism with death at 28 days in ICU. The Kaplan-Meier analysis (**Figure 2** and **Table 2**) showed that patients with *IFNL3* rs12980275 AA genotype had higher survival than patients with GG genotype ($p = 0.003$). The Cox regression analysis adjusted by the most relevant clinical and epidemiological characteristics showed that the G allele [either in a recessive model (GG) or additive (G)] was associated with a higher risk of death [adjusted hazard ratio (aHR) = 2.15, $p = 0.034$; aHR = 1.50, $p = 0.030$, respectively; **Table 2**].

DISCUSSION

Our study shows that *IFNL3* rs12980275 polymorphism was not associated with susceptibility to the development of septic shock, but a significant association with the risk of death at 28 days in septic shock patients was found. The A allele was linked to protection and the G allele was associated with an increased risk of death. To the best of our knowledge, this is the first study that points out the relationship between *IFNL3* SNPs and death in septic shock patients.

IFNL SNPs at transcription factor binding sites, promoter regions, methylation sites, and frameshift mutations, seem to modulate IFNL expression (12, 18). Specifically, rs12980275 is located in a downstream region of *IFNL3* and *IFNL4* genes and could be implicated in the regulation of gene expression since rs12980275 seems to influence the chromatin state (23). However, the search for the causal *IFNL* mutation is complicated, as SNPs within *IFNL3* gene are in high LD with other SNPs at *IFNL4*. Thus, the relationship between *IFNL3* SNPs and plasma IFNL3 levels is still not clear, since the different authors that have addressed this issue have reached discrepant results (12, 18). Moreover, minor alleles at *IFNL3* SNPs have been associated with ISG expression, suggesting that the immune response depends on the *IFNL3* SNPs (12, 13, 18). This last finding seems to be related to other SNPs that regulate the production of IFNL4 (18). As proposed by Bhushan and Chinnaswamy (18), the presence of the major *IFNL3* alleles (rs12979860 C allele and others in LD such as rs12980275 A allele) are linked to the *IFNL4* rs11322783 (previously called rs368234815) TT allele, which avoids the expression of a functional IFNL4 protein, generating a set of ISGs that could result in a protective phenotype against infection (18). On the other hand, the presence of the minor *IFNL3* alleles (rs12979860 T allele and others in LD such as rs12980275 G allele) are linked to the *IFNL4* rs11322783 ΔG allele, which is responsible of a fully functional IFNL4 protein expression, generating another set of ISGs that could result in a risk phenotype against infection (18). Therefore, taking into account what was discussed above, we can hypothesize that the

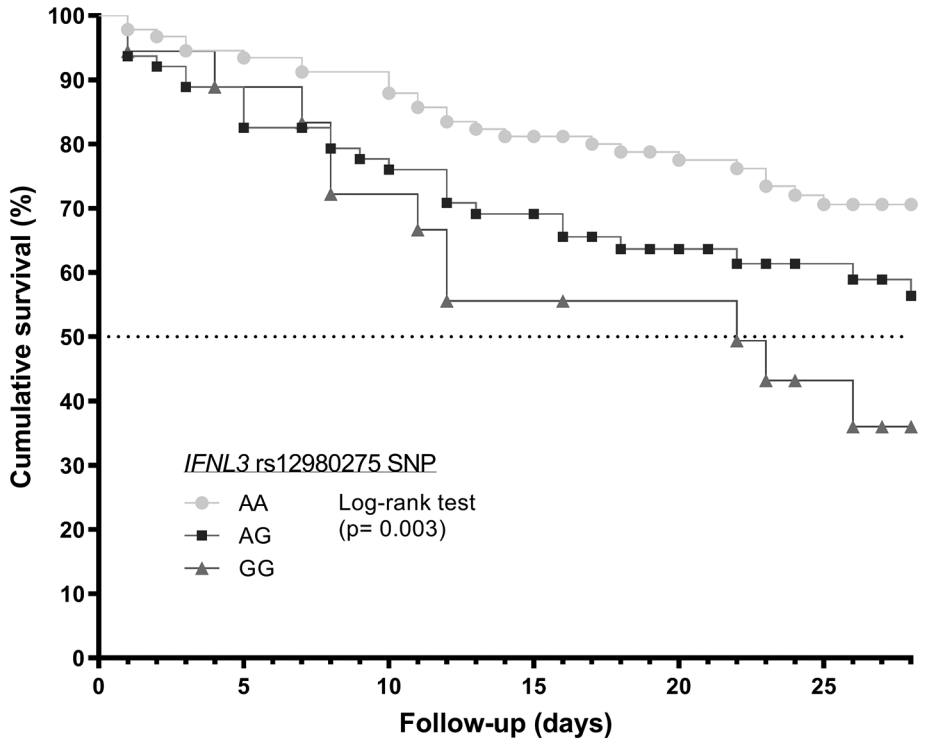


FIGURE 2 | Survival analysis (Kaplan–Meier curve) regarding to *IFNL3* rs12980275 polymorphism in septic shock patients who underwent major cardiac or abdominal surgery. Statistics: *P*-value was calculated by log-rank test. Abbreviations: IFNL3, Interferon lambda 3; SNP, single nucleotide polymorphism.

TABLE 2 | Survival probabilities at 28 days (Kaplan–Meier product-limit method) and risk of death in septic shock patients (Cox regression) who underwent major cardiac or abdominal surgery according to *IL-28B* rs12980275 SNP.

		Kaplan–Meier			Cox	
Model	**Genotype**	***N***	**Deaths**	***p*-value**	**aHR (95%CI)**	***p*-value**
Dominant	AA	91	25 (27.5%)	**0.009**	1.54 (0.91–2.61)	0.107
	AG/GG	81	36 (44.4%)			
Recessive	AA/AG	154	50 (32.5%)	**0.019**	2.15 (1.06–4.35)	**0.034**
	GG	18	11 (61.1%)			
Additive	AA	91	25 (27.5%)	**0.003**	1.50 (1.04–2.18)	**0.030**
	AG	63	25 (39.7%)			
	GG	18	11 (61.1%)			

Statistics: values are expressed as absolute count and percentage, and hazard ratio and 95% confidence interval. Significant differences are shown in bold. Abbreviations: aHR, adjusted hazard ratio; 95%CI, 95% confidence interval; p-value, level of significance; SNP, single nucleotide polymorphism; Cox, regression analysis adjusted by the most significant clinical and epidemiological characteristics.

IFNL3 rs12980275 AA genotype may be associated with a better outcome in patients with septic shock, decreasing the risk of death at 28 days.

Sepsis is a complex syndrome related to an excessive and inadequate immune response that may lead to organ dysfunction and multi-organ failure (10). Therefore, IFNL could be one of the mechanisms that modulate the inflammation and control pathogens in septic patients. For major surgery patients, the study of their genetic profile and the implementation of predictive models could help clinicians to identify those patients with septic shock related death. However, this hypothesis must be confirmed by further studies covering the analysis of serum levels of cytokines, gene expression products, and *IFNL3* polymorphisms in patients with sepsis.

LIMITATIONS OF THE STUDY

Firstly, this study had a retrospective design and it was conducted in one single hospital, only including patients that underwent major cardiac or abdominal surgery. Due to this fact, our

conclusions cannot be generalized to other septic patients. In order to overcome these limitations, further multi-centric studies, including patients from all kinds of ICUs, would be necessary. Secondly, we have a low sample size which limited the statistical power of this analysis and could explain the lack of association of *IFNL3* rs12980275 SNP with susceptibility to septic shock. Additionally, the low sample size could also increase the rate of false positives. Thirdly, regarding the survival analysis, it was performed with only one censoring point of 28-days mortality, but this censoring point day 28 is more appropriate than others (such as 7 or 90 days) to establish sepsis-related death (24). Fourthly, as a high LD exists between *IFNL1-4* polymorphisms, we interpreted that our results could be extrapolated to the linked *IFNL* SNPs. However, additional studies analyzing other SNPs in *IFNL* would be needed to confirm our results. Finally, another interesting analysis that we have not performed was to corroborate our results, that is, to identify the biological function of the individual SNPs of IFNL3/4. However, these research are out of the scope of our study and also constitute tasks that are quite complex and that have been investigated for a long time, more than a decade, by a large number of scientists without reaching conclusive results (12, 13, 18).

CONCLUSIONS

In conclusion, *IFNL3* rs12980275 polymorphism was associated with septic shock-related death in patients who underwent major surgery. This is a first preliminary study that suggests for the first time a role of *IFNL3* polymorphisms in the prognosis of septic shock. However, since the statistical power of this study was low, more research is needed to corroborate our findings.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation, to any qualified researcher.

ETHICS STATEMENT

The study was conducted according to the ethical requirements established by the Declaration of Helsinki. The Ethics Committee of Hospital Clínico Universitario (Valladolid) and Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda) approved the study. Written informed consent was provided by all participants before sample collection. When a patient was unable to sign, a family member or legal representative of the patient signed the consent.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

ET and SR: funding body. MJ-S, ET, and SR: study concept and design. SS, PJ-M, EG-S, MH-R, EG-P, PM-P, and ET: patients' selection and clinical data acquisition. MJ-S: sample preparation, DNA isolation and genotyping. FP-G, MJ-S, and SR: statistical analysis and interpretation of data and writing of the manuscript. AF-R and ET: critical revision of the manuscript for relevant intellectual content. SR: supervision and visualization. All authors read and approved the final manuscript.

FUNDING

This work has been supported by grants given by Instituto de Salud Carlos III (grant numbers PI15/01451 to ET), Gerencia de Salud, Consejería de Sanidad, Junta de Castilla y Leon (grant number GRS 463/A/10 and 773/A/13 to ET), and PFIZER (grant number CT25-ESP01-01 to SR). MJ-S and AF-R are supported by Instituto de Salud Carlos III (grant numbers CP17CIII/00007 and CP14CIII/00010, respectively).

ACKNOWLEDGMENTS

This study would not have been possible without the collaboration of all the patients, medical and nursery staff, and data managers who have taken part in the project. We want to acknowledge the patients in this study for their participation and to the laboratory of Dr. Jesus F. Bermejo-Martin for the collection of clinical samples used in this work. The authors also thank the Spanish National Genotyping Center (CEGENPRB2-ISCIII) for providing SNP genotyping services (http://www.cegen.org). CEGEN is supported by grant PT13/0001, ISCIII-SGEFI/FEDER.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.00186/full#supplementary-material

REFERENCES

1. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol.* (2017) 17:407–20. doi: 10.1038/nri.2017.36
2. Genga KR, Russell JA. Update of sepsis in the intensive care unit. *J Innate Immun.* (2017) 9:441–55. doi: 10.1159/000477419
3. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ.* (2016) 353:i1585. doi: 10.1136/bmj.i1585
4. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet.* (2020) 395:200–11. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32989-7
5. Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA.* (2014) 311:1308–16. doi: 10.1001/jama.2014.2637
6. Perner A, Gordon AC, De Backer D, Dimopoulos G, Russell JA, Lipman J, et al. Sepsis: frontiers in diagnosis, resuscitation and antibiotic therapy. *Intensive Care Med.* (2016) 42:1958–69. doi: 10.1007/s00134-016-4577-z

7. Rello J, Valenzuela-Sánchez F, Ruiz-Rodriguez M, Moyano S. Sepsis: a review of advances in management. *Adv Ther.* (2017) 34:2393–411. doi: 10.1007/s12325-017-0622-8
8. Coopersmith CM, De Backer D, Deutschman CS, Ferrer R, Lat I, Machado FR, et al. Surviving sepsis campaign: research priorities for sepsis and septic shock. *Intensive Care Med.* (2018) 44:1400–26. doi: 10.1007/s00134-018-5175-z
9. Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome. *Immunol Rev.* (2016) 274:330–53. doi: 10.1111/imr.12499
10. Deutschman CS. "Defining" sepsis: moving toward measuring the "dysregulated host response". *Crit Care Med.* (2017) 45:927–30. doi: 10.1097/CCM.0000000000002389
11. Liu SF, Malik AB. NF-κB activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* (2006) 290:L622–L45. doi: 10.1152/ajplung.00477.2005
12. Syedbasha M, Egli A. Interferon lambda: modulating immunity in infectious diseases. *Front Immunol.* (2017) 8:119. doi: 10.3389/fimmu.2017.00119
13. Cohen TS, Parker D. Microbial pathogenesis and type III interferons. *Cytokine Growth Factor Rev.* (2016) 29:45–51. doi: 10.1016/j.cytogfr.2016.02.005
14. Planet PJ, Parker D, Cohen TS, Smith H, Leon JD, Ryan C, et al. Lambda interferon restructures the nasal microbiome and increases susceptibility to *Staphylococcus aureus* superinfection. *MBio.* (2016) 7:e01939–15. doi: 10.1128/mBio.01939-15
15. Luo Q, Liu Y, Liu S, Yin Y, Xu B, Cao J. Interleukin 28 is a potential therapeutic target for sepsis. *Clin Immunol.* (2019) 205:29–34. doi: 10.1016/j.clim.2019.05.012
16. Cohen TS, Prince AS. Bacterial pathogens activate a common inflammatory pathway through IFNλ regulation of PDCD4. *PLoS Pathog.* (2013) 9:e1003682. doi: 10.1371/journal.ppat.1003682
17. Jiménez-Sousa MA, Fernández-Rodríguez A, Guzmán-Fulgencio M, García-Álvarez M, Resino S. Meta-analysis: implications of interleukin-28B polymorphisms in spontaneous and treatment-related clearance for patients with hepatitis C. *BMC Med.* (2013) 11:6. doi: 10.1186/1741-7015-11-6
18. Bhushan A, Chinnaswamy S. Identifying causal variants at the interferon lambda locus in case-control studies: utilizing non-synonymous variant rs117648444 to probe the role of IFN-λ4. *Gene.* (2018) 664:168–80. doi: 10.1016/j.gene.2018.04.076
19. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med.* (2003) 29:530–8. doi: 10.1007/s00134-003-1662-x
20. 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) 315:801–10. doi: 10.1001/jama.2016.0287
21. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Med.* (2017) 43:304–77. doi: 10.1007/s00134-017-4683-6
22. Harris PNA, McNamara JF, Lye DC, Davis JS, Bernard L, Cheng AC, et al. Proposed primary endpoints for use in clinical trials that compare treatment options for bloodstream infection in adults: a consensus definition. *Clin Microbiol Infect.* (2017) 23:533–41. doi: 10.1016/j.cmi.2016.10.023
23. Guo L, Du Y, Qu S, Wang J. rVarBase: an updated database for regulatory features of human variants. *Nucleic Acids Res.* (2016) 44:888–93. doi: 10.1093/nar/gkv1107
24. Rannikko J, Syrjanen J, Seiskari T, Aittoniemi J, Huttunen R. Sepsis-related mortality in 497 cases with blood culture-positive sepsis in an emergency department. *Int J Infect Dis.* (2017) 58:52–7. doi: 10.1016/j.ijid.2017.03.005

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Pérez-García, Jiménez-Sousa, Soria, Jorge-Monjas, Fernández-Rodríguez, Gómez-Sánchez, Heredia-Rodríguez, Gómez-Pesquera, Martínez-Paz, Tamayo and Resino. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Artículo 2

OLFM4 polymorphisms predict septic shock survival after major surgery

(Eur J Clin Invest. 2021 Apr;51(4):e13416)

En este artículo, nuestro objetivo fue analizar el valor pronóstico de los polimorfismos en el gen de la Olfactomedina 4 (*OLFM4*) sobre la mortalidad asociada a shock séptico en pacientes sometidos a cirugía mayor.

Se realizó un estudio retrospectivo incluyendo muestras de 175 pacientes que habían sido sometidos a cirugía mayor (cardíaca o abdominal) y que posteriormente desarrollaron shock séptico. Se seleccionaron un total de 7 polimorfismos (rs9536339, rs1891944, rs9563130, rs9536343, rs17552047, rs2298229 y rs12552). Para los estudios de asociación genética se emplearon modelos de herencia recesivo, dominante y aditivo. Se realizó un estudio de supervivencia a 28 días mediante análisis de Kaplan-Meier y regresión de Cox multivariante ajustada por las covariables más significativas. Se estudió además el rendimiento diagnóstico de dichos polimorfismos para predecir mortalidad utilizando curvas AUROC (*area under the receiver-operating characteristic*).

De los siete polimorfismos analizados, solo uno (rs17552047) mostró una relación con la mortalidad en pacientes con shock séptico. En este sentido, el análisis de Kaplan-Meier reveló que los pacientes con genotipo AA en rs17552047 presentaron mayor supervivencia que los pacientes con genotipo GG (p=0,024). Además, en la regresión de Cox multivariante, el polimorfismo rs17552047 se asoció con la mortalidad, siendo un factor protector para la misma (*adjusted hazard ratio* – aHR=0,44, p=0,001). En cuanto al rendimiento diagnóstico para predecir la mortalidad asociada al shock séptico, un primer modelo compuesto solo por las variables clínicas más significativas mostró un AUROC=0,776. Al añadir el polimorfismo rs17552047, mejoró el poder predictivo (AUROC=0,811). Sin embargo, la diferencia entre el primer y el segundo modelo no alcanzó la significación estadística (p=0,065).

Como conclusión, en pacientes sometidos a cirugía mayor, la presencia del polimorfismo rs17552047 en el gen de *OLFM4* se relacionó con la mortalidad asociada a shock séptico. Además, la combinación de dicho polimorfismo con otras variables clínicas permitió construir un modelo con un buen poder predictivo para mortalidad.

Received: 21 July 2020 | Revised: 14 September 2020 | Accepted: 22 September 2020

DOI: 10.1111/eci.13416

Check for updates

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

OLFM4 polymorphisms predict septic shock survival after major surgery

Felipe Pérez-García[1] | **Salvador Resino**[1] | **Esther Gómez-Sánchez**[2] | **Hugo Gonzalo-Benito**[2] | **Amanda Fernández-Rodríguez**[1] | **Mario Lorenzo-López**[2] | **María Heredia-Rodríguez**[2] | **Estefanía Gómez-Pesquera**[2] | **Eduardo Tamayo**[2] | **Maria Ángeles Jiménez-Sousa**[1] | **Group of Biomedical Research in Critical Care Medicine (BioCritic)**

[1]Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain

[2]Departamento de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain

Correspondence
Salvador Resino and María Ángeles Jiménez-Sousa, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Carretera Majadahonda- Pozuelo, Km 2.2, Majadahonda, Madrid 28220, Spain.
Email: sresino@isciii.es (S. R.), and majimenezsousa@yahoo.es (M. A. J. S)

Funding information
This work has been supported by grants given by Instituto de Salud Carlos III (grant number PI15/01451 to ET), 'Gerencia de Salud, Consejería de Sanidad, Junta de Castilla y Leon' [grant number GRS 463/A/10 and 773/A/13 to ET] and PFIZER [grant number CT25-ESP01-01 to SR]. MAJS and AFR are supported by 'Instituto de Salud Carlos III' [grant numbers CP17CIII/00007 and CP14CIII/00010, respectively].

Abstract

Background: Higher expression of olfactomedin-4 (OLFM4), a gene regulated by nuclear factor-kappa B (NF-κB), has been related to a higher risk of organ failure and death in patients with septic shock. We aimed to evaluate the association between *OLFM4* single nucleotide polymorphisms (SNPs) and septic shock-related death in 175 patients who underwent major surgery, as well as its performance in predicting mortality.

Materials and methods: We carried out a retrospective study. A total of seven *OLFM4* SNPs were genotyped by Agena Bioscience's MassARRAY platform. Statistical analysis was performed by Kaplan-Meier and Cox regression tests. The diagnostic performance for predicting septic shock-related death was evaluated by the area under the receiver-operating characteristic (AUROC) curve.

Results: Patients with rs17552047 A allele and rs1891944 TT genotype had higher survival than patients with rs17552047 G allele (*P*-value = .024) and patients with rs1891944 CC/CT genotype (*P*-value = .038). However, only rs17552047 was associated with a lower risk of death under an additive inheritance model (adjusted hazard ratio [aHR] = 0.44, 95% CI = 0.27-0.71). The multivariate model with the most significant clinical variables (lactate, chronic kidney disease, peritonitis, heart disease and elective surgery) showed an AUROC of 0.776 for predicting septic shock-related death. When we added the *OLFM4* rs17552047 SNP to the previous model, the AUROC was 0.811 and was close to reaching significant differences with the previous model (*P*-value = .065).

Conclusion: *OLFM4* rs17552047 A allele predicts septic shock survival in patients who underwent major surgery. Furthermore, rs17552047, together with clinical variables, could be useful to predict the outcome of septic shock.

Eduardo Tamayo and Maria Ángeles Jiménez-Sousa contributed equally to this study.

© 2020 Stichting European Society for Clinical Investigation Journal Foundation. Published by John Wiley & Sons Ltd

Artículo 3

CEACAM7 polymorphisms predict genetic predisposition to mortality in post-surgical septic shock patients

(J Microbiol Immunol Infect. 2022 Jun;55(3):540-544)

El presente estudio analizó la relación entre los SNPs del gen de la molécula de adhesión relacionada con el antígeno carcinoembrionario 7 (*CEACAM7*) y la muerte relacionada con shock séptico. Se realizó un estudio retrospectivo sobre muestras clínicas de 173 pacientes que fueron sometidos a una cirugía mayor (cardíaca o abdominal) y desarrollaron un shock séptico después de la cirugía.

Se seleccionaron cuatro SNPs de *CEACAM7* (rs1001578, rs10409040, rs59654817 y rs889365). Para los estudios de asociación genética, se emplearon modelos de herencia dominante, recesivo y aditivo. Se realizó el análisis de supervivencia a los 28 días mediante un análisis de Kaplan-Meier y regresión de Cox. La regresión de Cox se ajustó con las covariables más relevantes, seleccionadas a partir de diferentes variables epidemiológicas y demográficas mediante una regresión por pasos.

En este estudio, el análisis de Kaplan-Meier mostró que los pacientes con genotipo rs10409040 CG/GG (modelo dominante) y rs889365 AA (modelo recesivo) presentaron una mayor mortalidad que los pacientes con genotipo CC (p=0,019) y GG/AG (p=0,020), respectivamente. Además, el genotipo rs1001578 CC (herencia dominante) mostró mayor mortalidad, pero no llego a ser significativo (p=0,058). Los modelos de regresión de Cox mostraron que los genotipos rs10409040 CG/GG y rs889365 AA se asociaron con un mayor riesgo de muerte (*adjusted hazard ratio* (aHR)=2,06 y p=0,007 para rs10409040; aHR=3,60 y p=0,017 para rs889365), mientras que rs1001578 CC se asoció con un menor riesgo de muerte (aHR=0,56 y p=0,034).

En conclusión, los polimorfismos rs10409040, rs889365 y rs1001578 de *CEACAM7* se asociaron con la mortalidad relacionada con shock séptico en pacientes sometidos a cirugía mayor.

Journal of Microbiology, Immunology and Infection 55 (2022) 540—544

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

journal homepage: www.e-jmii.com

Short Communication

CEACAM7 polymorphisms predict genetic predisposition to mortality in post-surgical septic shock patients

Felipe Pérez-García [a], Maria Ángeles Jiménez-Sousa [a,], Esther Gómez-Sánchez [b], Hugo Gonzalo-Benito [b], Amanda Fernández-Rodríguez [a], Mario Lorenzo-López [b], María Heredia-Rodríguez [b], Pedro Martínez-Paz [c], Estefanía Gómez-Pesquera [b], Eduardo Tamayo [b,1], Salvador Resino [a,*,1]**

[a] *Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain*
[b] *Departamento de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain*
[c] *Departamento de Cirugía, Oftalmología, Otorrinolaringología y Fisioterapia, Universidad de Valladolid, Spain*

Received 22 June 2021; received in revised form 9 July 2021; accepted 15 September 2021
Available online 8 October 2021

KEYWORDS
CEACAM7;
SNPs;
Septic shock;
Survival;
Major surgery

Abstract We carried out a retrospective exploratory study on 173 patients who underwent major surgery and developed septic shock after surgery. Our findings suggest that *CEACAM7* rs1001578, rs10409040, and rs889365 polymorphisms could influence septic shock-related death in individuals who underwent major surgery.
Copyright © 2021, Taiwan Society of Microbiology. Published by Elsevier Taiwan LLC. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

* Corresponding author. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Carretera Majadahonda- Pozuelo, Km 2.2, 28220 Majadahonda, Madrid, Spain. Fax: +34 918 223 269.
** Corresponding author. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Carretera Majadahonda- Pozuelo, Km 2.2, 28220 Majadahonda, Madrid, Spain. Fax: +34 918 223 269.
E-mail addresses: felipe.perez.garcia.87@gmail.com (F. Pérez-García), majimenezsousa@yahoo.es (M.Á. Jiménez-Sousa), esthergzam@hotmail.com (E. Gómez-Sánchez), hugonzalo@gmail.com (H. Gonzalo-Benito), amandafr@isciii.es (A. Fernández-Rodríguez), mariolorenzo17@yahoo.es (M. Lorenzo-López), maria_her_05@hotmail.com (M. Heredia-Rodríguez), pedrojose.martinez@uva.es (P. Martínez-Paz), egp29@hotmail.com (E. Gómez-Pesquera), tamayo@med.uva.es (E. Tamayo), sresino@isciii.es (S. Resino).
[1] Both authors contributed equally to this study.

https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.09.006
1684-1182/Copyright © 2021, Taiwan Society of Microbiology. Published by Elsevier Taiwan LLC. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Introduction

The most severe stage of sepsis is septic shock, in which the underlying circulatory, cellular, and metabolic abnormalities are marked enough to increase mortality. Deaths related to sepsis and septic shock have decreased in the last decade, but they remain higher than for other pathologies. Moreover, the proper management of sepsis is based mainly on an early diagnosis and adequate treatment.[1]

Genetic polymorphisms influence the immune response that septic patients develop due to the infection, which is crucial to predict the outcome of these patients. In line with this, knowing the genetic background of these patients could help identify which of them present a high risk of dying, thus allowing the stratification and the early implementation of adequate treatments.

Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAMs) are a group of immunoglobulin-related glycoproteins that play a role as modulators of diverse cellular processes such as differentiation, proliferation, cell adhesion, and survival.[2] *CEACAM* family genes are expressed across multiple cell types, including endothelial, epithelial, and immune cells such as macrophages and neutrophils.[3,4] The expression of CEACAMs on the host cell surface can provide a foothold for bacteria allowing pathogens to colonize and, in some cases, invade tissue and cause disease.[5] Moreover, several articles have proposed that some CEACAM family members play a role in innate immunity, particularly as pathogen receptors.[4,6,7] In a previous collaborative study carried out by our group,[8] we found *CEACAM7* gene expression in peripheral blood was directly linked to sepsis. Thus, we aimed to explore the association between *CEACAM7* SNPs and septic shock-related deaths in patients undergoing major surgery.

Methods

Study design

We performed a retrospective study between 2008 and 2012 on 173 patients recruited at the Hospital Clínico Universitario of Valladolid (Spain) who developed septic shock after undergoing major surgery. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of Instituto de Salud Carlos III (PI05/09). Written informed consent was obtained from all patients before sample collection.

Demographic and clinical data were collected from medical records. Sequential Organ Failure Assessment (SOFA score) and Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II score) were calculated to assess the sepsis severity within the first 24 h following septic shock diagnosis.

Major surgery was defined as any surgical procedure (cardiac or abdominal) performed under general anesthesia, requiring respiratory assistance. Emergency surgery was indicated for life-threatening situations. The presence of infection was ruled out before surgery and microbiologically confirmed for all patients after surgery. The choice of empiric antibiotic treatment was made according to international guidelines and the distribution of the most common bacterial pathogens in our Intensive Care Unit. Septic shock was defined as sepsis with serum level of lactate $>$18 mg/dL ($>$2 mmol/L) and an acute circulatory failure with persistent arterial hypotension ($<$65 mmHg) despite adequate vasopressor therapy, according to the updated criteria of The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3).

CEACAM7 SNPs

CEACAM7 gene was significantly differentially expressed (fold change $>$3) in whole blood in septic patients compared to patients with no sepsis, according to a previous collaborative study carried out by our group.[8] For SNP selection, we used rSNPBase (http://rsnp.psych.ac.cn/) to filter for SNPs involved in proximal regulation regions in blood tissue (open chromatin regions, transcription factor binding sites, histone markers, or CpG regions), and selected those SNPs with a minor allelic frequency (MAF) over 15% in the European population. Before that, tagSNPs for those groups of SNPs with strong linkage disequilibrium (LD) were selected according to the pairwise r^2 LD criterion ($r^2 > 0.8$). Finally, we selected four SNPs in CEACAM7: rs1001578, rs10409040, rs59654817, and rs889365.

Genomic DNA was extracted using the High Pure PCR Template Preparation kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Next, DNA genotyping was performed at the Spanish National Genotyping Center (CeGen; http://www.cegen.org/) using the Agena Bioscience's MassARRAY platform (San Diego, CA, USA) with the iPLEX® Gold assay design system.

Statistical analysis

Quantitative variables were expressed as the median and interquartile range (IQR), and categorical variables were shown as absolute count (percentage). Comparisons between groups were performed using the Mann—Whitney U test for continuous variables and the Chi-squared or two-tailed Fisher's exact test for categorical variables, including the Hardy—Weinberg equilibrium (HWE) for all *CEACAM7* SNPs that were analyzed.

The outcome variable was death within 28 days, which is the most appropriate for establishing sepsis-related death. Survival analyses were carried out for dominant, additive, and recessive models of inheritance. Survival probabilities were estimated by the Kaplan—Meier method, and the log-rank test assayed differences between groups. We used Cox proportional-hazards models to assess the risk of dying, adjusting by the most significant covariates with a stepwise forward selection method (pin $<$0.05 and pout $<$0.20). We included as covariates age, gender, comorbidities (hypertension, diabetes, obesity, heart disease, chronic kidney disease, chronic obstructive pulmonary disease, liver disease, and neoplasia), peritonitis, adequate antibiotic treatment, SOFA score, lactate, the urgency of surgery (scheduled or emergency) and type of surgery (cardiac or abdominal). We excluded spurious associations using multiple testing corrections with the false discovery rate (FDR)

using the Benjamini and Hochberg procedure (q-value). We considered a p-value or q-value less than 0.05 as significant.

LD was computed using Haploview 4.2 software, and statistical analysis was performed using Stata/IC 13.1 (StataCorp, Texas, USA).

Results

Patient characteristics

Baseline characteristics of septic shock patients, stratified by 28-days mortality, are shown in Supplementary Table 1. Briefly, patients who died were older, had higher percentages of chronic kidney disease, emergency surgery, peritonitis, and presented higher APACHE II scores (p-value <0.05). Additionally, patients who died developed earlier septic shock after surgery, had lower percentages of catheter-related bacteremia, cardiac surgery, and pneumonia (p-value <0.05).

Characteristics of *CEACAM7* SNPs

LD among most SNPs was high, but the maximum r^2 was 0.16 (Supplementary Figure 1). Rs59654817 and rs889365 were located in intronic regions of the *CEACAM7* gene, and the other two SNPs (rs1001578 and rs10409040) were located at the upstream of the *CEACAM7* gene. All SNPs had a MAF higher than 10% and fulfilled the HWE (p-value >0.05) (Supplementary Table 2).

Moreover, we performed a sub-analysis stratifying by the type of surgery and the presence of active neoplasm in our patients, but we did not find differences in genotype frequencies for *CEACAM7* SNPs (Supplementary Table 3).

Risk of septic shock-related death

Patients with *CEACAM7* rs10409040 CG/GG genotype (dominant model) and rs889365 AA genotype (recessive model) presented a higher mortality than patients with CC genotype (p-value = 0.019, q-value = 0.040) and GG/AG genotype (p-value = 0.020, q-value = 0.040), respectively. Furthermore, rs1001578 SNP was close to reaching statistical significance under the dominant inheritance model (p-value = 0.058, q-value = 0.077) (Table 1; Fig. 1).

Patients with rs10409040 CG/GG and rs889365 AA genotypes had a higher risk of death (adjusted hazard ratio [aHR] = 2.06 (q-value = 0.028) and aHR = 3.60 (q-value = 0.038), respectively), whereas rs1001578 CT/TT genotype was associated with a lower risk of death (aHR = 0.56 (q-value = 0.045)) (Table 1).

Discussion

Our study points out for the first time the relationship between *CEACAM7* SNPs and septic shock-related death. We found *CEACAM7* polymorphisms were linked to septic shock-related death. In this regard, rs10409040 CG/GG and rs889365 AA genotypes were associated with higher mortality, whereas rs1001578 CT/TT genotype was linked to increased survival.

CEACAM7 encodes a protein related to the immunoglobulin superfamily that regulates normal cellular differentiation and is mainly expressed in epithelial cells, especially pancreatic ducts and colorectal epithelial cells. The physiological function of CEACAM7 is not fully understood. However, as described in the Genotype-Tissue Expression Portal (GTEx Portal, https://gtexportal.org/), *CEACAM7* SNPs evaluated in this study seem to have an impact on the gene expression regulation of several *CEACAMs*, not only *CEACAM7*. In this setting, rs10409040 is located in an upstream region of several *CEACAMs* genes, such as *CEACAM4* and *CEACAM7*, being rs10409040 CG/GG genotypes linked to a lower *CEACAM4* expression in blood. CEACAM4 is a neutrophil receptor that triggers phagocytosis of bacteria,[4] and it has been reported that *CEACAM4* is under-expressed in patients with sepsis compared to non-septic patients. A decrease in *CEACAM4* expression levels in septic patients could lead to worse

Table 1 Survival probabilities (Kaplan–Meier product-limit method) and risk of death in septic shock patients who underwent major cardiac or abdominal surgery according to *CEACAM7* SNPs.

CEACAM7 SNPs				Kaplan–Meier estimation			Cox regression		
SNP	Model	Genotype	N	Deaths	*p*-value	*q*-value*	aHR (95%CI)	*p*-value	*q*-value*
rs1001578	Dominant	CC	90	37 (41.1%)	0.058	0.077	0.56	**0.034**	**0.045**
		CT/TT	83	23 (27.7%)			(0.33–0.96)		
rs10409040	Dominant	CC	91	24 (26.4%)	**0.019**	**0.040**	2.06	**0.007**	**0.028**
		CG/GG	82	36 (43.9%)			(1.21–3.49)		
rs59654817	Dominant	GG	81	29 (35.8%)	0.865	0.865	1.21	0.501	0.501
		GA/AA	92	31 (33.7%)			(0.70–2.08)		
rs889365	Recessive	GG/AG	168	56 (33.3%)	**0.020**	**0.040**	3.60	**0.019**	**0.038**
		AA	5	4 (80.0%)			(1.24–10.48)		

Statistics: Values are expressed as absolute count and percentage, and adjusted hazard ratio and 95% confidence interval. Cox regression analysis was adjusted by the most significant clinical, epidemiological and genetic characteristics (see statistical analysis section) (*), p-values were corrected for multiple testing using the false discovery rate (FDR) with Benjamini and Hochberg procedure (q-value). Significant differences are shown in bold.

Abbreviations: CEACAM7: Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 7; aHR: adjusted hazard ratio; 95%CI: 95% confidence interval; p-value: level of significance; SNP: single nucleotide polymorphism.

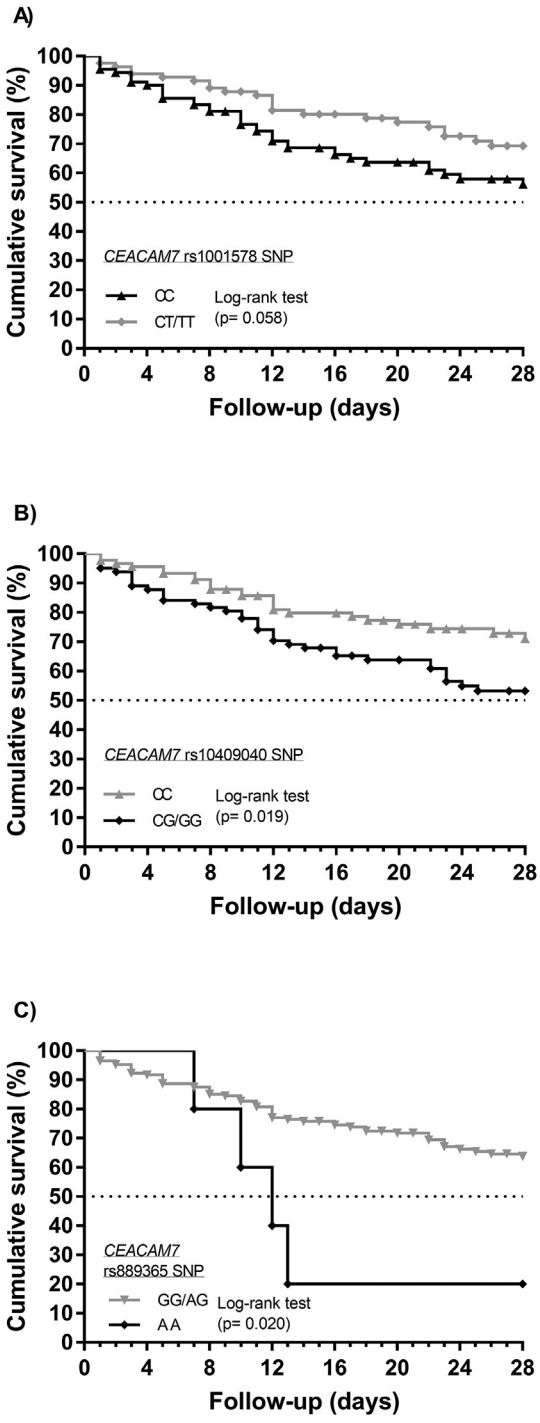


Figure 1. Survival analysis (Kaplan—Meier curve) regarding *CEACAM7* polymorphisms in septic shock patients who underwent major surgery. A) *CEACAM7* rs1001578 polymorphism; B) *CEACAM7* rs10409040 polymorphism; C) *CEACAM7* rs889365 polymorphism. **Statistics:** P-value was calculated by log-rank test. **Abbreviations:** CEACAM7, carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 7; SNP, single nucleotide polymorphism.

infection control, explaining higher mortality in patients with rs10409040 CG/GG genotypes.[9] On the other hand, rs1001578 CT/TT genotype is related to a lower *CEACAM7* expression in esophagus mucosa and lower *CEACAM6* expression in the blood (https://genenetwork.nl/bloodeqtlbrowser/),[10] which has been described as a pathogen receptor that mediates cellular adhesion and invasion.[7] In line with this, a decrease in *CEACAM6* expression in blood could decrease pathogenicity by reducing the docking sites for bacteria. Finally, the rs889365AA genotype is related to *CEACAM7* overexpression in esophagus mucosa. Although CEACAM7 had not yet been described as a receptor for pathogens, this role has been suggested for SARS-CoV-2.[6] Inversely to rs1001578, an increase in the mucosal docking sites for pathogens could increase the pathogenicity in septic patients.[2] However, although our hypotheses are supported by two large consensus databases that provide information about gene expression and regulation (https://gtexportal.org/ and https://genenetwork.nl/bloodeqtlbrowser/),[10] additional studies that analyze *CEACAM7* polymorphisms together with levels of expression of *CEACAM4*, *CEACAM6*, and *CEACAM7* in patients with septic shock would be needed to confirm these hypotheses.

Since some members of the CEACAM family play a key role in innate immunity,[4,6,7] it would be very interesting to extend the study of these polymorphisms to other pathologies. Both *CEACAM7* polymorphisms and gene expression levels of *CEACAM4*, *CEACAM6*, and *CEACAM7* could influence other inflammatory sterile pathologies such as autoimmune diseases. Another possibility would be to study its impact in the context of acute viral infections that present with clinical courses similar to sepsis, such as COVID-19 or influenza.

Our study presents several limitations. First, this is a retrospective study performed in one center, and we only included patients who underwent major surgery. Consequently, our conclusions could not be generalized to other kind of septic patients. Second, this study has an exploratory nature since the statistical power of our study could be limited due to the restricted sample size. Finally, the functional role of *CEACAM7* in immunity and the functional effects of selected SNPs are only partially understood; however, we did not have samples available for a RNA-seq study and to explore the potential role of the *CEACAM7* SNPs on gene expression.

Our preliminary study suggests that *CEACAM7* rs1001578, rs10409040, and rs889365 polymorphisms could influence septic shock-related death in individuals who underwent major surgery. However, more studies with larger sample sizes are needed to confirm our findings.

Ethics approval and consent to participate

This study was conducted following the Declaration of Helsinki. The Ethics Committee of Instituto de Salud Carlos III (PI05/09) approved the study. Written informed consent was provided by all participants before sample collection.

Consent for publication

Not applicable.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study may be available from the corresponding author upon reasonable request.

Funding

This work has been supported by grants given by Instituto de Salud Carlos III (grant number PI15/01451 to ET), "Gerencia de Salud, Consejería de Sanidad, Junta de Castilla y Leon" [grant number GRS 463/A/10 and 773/A/13 to ET], and PFIZER [grant number CT25-ESP01-01 to SR]. MAJS and AFR are supported by "Instituto de Salud Carlos III" [grant numbers CP17CIII/00007 and CP14CIII/00010, respectively].

Author contributions

Funding body, ET and SR. Study concept and design: MAJS, ET and SR. Patients' selection and clinical data acquisition: EGS, HGB, MLL, MHR, EGP, PMDP and ET. Sample preparation, DNA isolation and genotyping: MAJS. Statistical analysis and interpretation of data: FPG, MAJS and SR. Writing of the manuscript: FPG, MAJS and SR. Critical revision of the manuscript for relevant intellectual content: AFR and ET. Supervision and visualization: SR.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

This study would not have been possible without the collaboration of all the patients, medical and nursery staff, and data managers who have taken part in the project. We want to acknowledge the patients in this study for their participation and to the laboratory of Dr. Jesus F Bermejo-Martin for the collection of clinical samples used in this work. The authors also thank the Spanish National Genotyping Center (CEGENPRB2-ISCIII) for providing SNP genotyping services (http://www.cegen.org). CEGEN is supported by grant PT13/0001, ISCIII-SGEFI/FEDER.

References

1. Rello J, Valenzuela-Sánchez F, Ruiz-Rodriguez M, Moyano S. Sepsis: a review of advances in management. *Adv Ther* 2017;**34**(11):2393—411. https://doi.org/10.1007/s12325-017-0622-8.
2. Tchoupa A, Schuhmacher T, Hauck CR. Signaling by epithelial members of the CEACAM family — mucosal docking sites for pathogenic bacteria. *Cell Commun Signal* 2014;**12**(1):27. https://doi.org/10.1186/1478-811X-12-27.
3. Schmitter T, Agerer F, Peterson L, Münzner P, Hauck CR. Granulocyte CEACAM3 is a phagocytic receptor of the innate immune system that mediates recognition and elimination of human-specific pathogens. *J Exp Med* 2004;**199**(1):35—46. https://doi.org/10.1084/jem.20030204.
4. Delgado Tascón J, Adrian J, Kopp K, Scholz P, Tschan MP, Kuespert K, et al. The granulocyte orphan receptor CEACAM4 is able to trigger phagocytosis of bacteria. *J Leukoc Biol* 2015;**97**(3):521—31. https://doi.org/10.1189/jlb.2AB0813-449RR.
5. Kc R, Shukla SD, Walters EH, O'Toole RF. Temporal upregulation of host surface receptors provides a window of opportunity for bacterial adhesion and disease. *Microbiology (Read)* 2017;**163**(4):421—30. https://doi.org/10.1099/mic.0.000434.
6. Nunnari G, Sanfilippo C, Castrogiovanni P, Imbesi R, Li Volti G, Barbagallo I, et al. Network perturbation analysis in human bronchial epithelial cells following SARS-CoV2 infection. *Exp Cell Res* 2020;**395**(2):112204. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.112204.
7. Ambrosi C, Scribano D, Sarshar M, Zagaglia C, Singer BB, Palamara AT. Acinetobacter baumannii targets human carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAMs) for invasion of pneumocytes. *mSystems* 2020;**5**(6). https://doi.org/10.1128/mSystems.00604-20.
8. Almansa R, Heredia-Rodríguez M, Gomez-Sanchez E, Andaluz-Ojeda D, Iglesias V, Rico L, et al. Transcriptomic correlates of organ failure extent in sepsis. *J Infect* 2015;**70**(5):445—56. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2014.12.010.
9. McHugh L, Seldon TA, Brandon RA, Kirk JT, Rapisarda A, Sutherland AJ, et al. A molecular host response assay to discriminate between sepsis and infection-negative systemic inflammation in critically ill patients: discovery and validation in independent cohortsAckland GL, editor. *PLoS Med* 2015;**12**(12):1001916. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001916.
10. Westra H-J, Peters MJ, Esko T, Yaghootkar H, Schurmann C, Kettunen J, et al. Systematic identification of trans eQTLs as putative drivers of known disease associations. *Nat Genet* 2013;**45**(10):1238—43. https://doi.org/10.1038/ng.2756.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.09.006.

Artículo 4

IL-1R1 rs6755229 polymorphism is related to death in patients undergoing major surgery who develop septic shock: a retrospective study

(Infect Dis (Lond). 2022 Mar;54(3):224-227)

En este trabajo, quisimos evaluar la asociación entre los SNPs del gen del receptor tipo I de la Interleucina 1 (*IL-1R1*) y la muerte relacionada con shock séptico. Para ello, realizamos un estudio retrospectivo sobre 175 pacientes que fueron sometidos a cirugía mayor y que desarrollaron un shock séptico tras dicha cirugía.

Se seleccionaron tres SNPs de *IL-1R1* (rs2110726, rs3917225 y rs6755229). Para los estudios de asociación genética, se emplearon modelos de herencia dominante, recesivo y aditivo. Se realizó el análisis de supervivencia a los 28 días mediante un análisis de Kaplan-Meier y regresión de Cox ajustada con las covariables epidemiológicas y demográficas más relevantes.

De los tres SNPs analizados, solo el rs6755229 mostró una asociación con la mortalidad. Concretamente, el análisis de Kaplan-Meier mostró que los pacientes con genotipo rs6755229 AG/GG (modelo dominante) presentaban una mayor mortalidad a 28 días que los pacientes con genotipo AA, aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística (p=0,083). Sin embargo, el modelo de regresión multivariante de Cox mostró que la presencia del genotipo rs6755229 AG/GG se asociaba con un mayor riesgo de muerte a 28 días (*adjusted hazard ratio* (aHR)=2,50 y p=0,011).

Como conclusión, el polimorfismo rs6755229 de *IL-1R1* se asocia con una mayor mortalidad relacionada con shock séptico en pacientes sometidos a cirugía mayor.

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

INFECTIOUS DISEASES,
2022; VOL. 54,
NO. 3, 224–227

https://doi.org/10.1080/23744235.2021.1988142

LETTER TO THE EDITOR

Check for updates

IL-1R1 rs6755229 polymorphism is related to death in patients undergoing major surgery who develop septic shock: a retrospective study

To the Editor,

In order to predict mortality in septic patients, several biomarkers are investigated. Along the line, a study recently presented in this journal showed serum sFASL levels are associated with the severity of sepsis and mortality [1]. We focussed on the genetic background to predict the outcome of septic patients. Interleukin 1 receptors (IL-1R) constitute a family of ten members related to the immune response [2]. IL-1 receptor type 1 (IL-1R1) is predominant on T cells, fibroblasts, epithelial and endothelial cells and initiates the inflammatory response by binding its agonist ligands (IL-1α and IL-1β), while the IL-1 receptor antagonist (IL1RA) inhibits the pro-inflammatory response [2]. IL-1RI plays a crucial role in sepsis by inducing high levels of chemokines and the subsequent recruitment of neutrophils to infection sites [3]. In a previous study, we found that IL-1R1 gene expression in peripheral blood cells was higher (fold change >2) in septic patients than in non-septic patients [4]. Now, we aimed to explore whether *IL-1R1* single nucleotide polymorphisms (SNPs) were associated with septic shock-related death at 28-days in patients undergoing major surgery.

We performed a retrospective study on 175 patients recruited at Hospital Clínico Universitario of Valladolid (Spain) between 2008 and 2012. All patients underwent major surgery (abdominal or cardiac) and developed septic shock after surgery, defined according to Sepsis-3 criteria [5]. Patients' characteristics were collected from medical records. rSNPBase (http://rsnp.psych.ac.cn/) [6] was used to select *IL-1R1* polymorphisms involved in proximal regulation regions in blood tissue. Next, we selected those SNPs with a minor allelic frequency (MAF) over 15% in the European population, and later, tagSNPs based on pairwise r^2 LD criterion ($r^2 > 0.8$) were selected. Finally, three SNPs were analysed: rs2110726, rs3917225, and rs6755229. Total DNA was extracted from peripheral blood, and SNPs were genotyped at the Spanish National Genotyping Centre (CeGen; http://www.cegen.org/) using the Agena Bioscience's MassARRAY platform (San Diego, CA, USA). Statistical analysis was performed using Stata/IC 13.1 (StataCorp, Texas, USA). Comparisons between groups were performed using the Mann–Whitney U test (continuous variables) and the Chi-squared or two-tailed Fisher's exact test (categorical variables). The outcome variable was death within 28 days from surgery. Genetic analysis was made using dominant, recessive, and additive inheritance models. Survival estimation was calculated by the Kaplan–Meier method (log-rank test). Cox regression was employed to assess the risk of death, adjusting by the most significant covariates with a forward stepwise selection method (pin <0.05, pout <0.20). A p-value less than 0.05 was considered significant. LD was computed by Haploview 4.2 software.

Patients who died were older and had higher percentages of chronic kidney disease, abdominal and emergency surgery, peritonitis, and a higher APACHE II score (Table 1). Regarding LD, the maximum value of D' among *IL-1R1* SNPs was high ($<80\%$), but the maximum value of R^2 was low (<0.39). All SNPs presented a MAF higher than 10% and fulfilled the Hardy-Weinberg equilibrium (p-value $>.05$). Patients with *IL-1R1* rs6755229 AG/GG genotype presented higher mortality at 28 days than patients with AA genotype by Kaplan-Meier analysis, but the difference did not reach statistical significance ($p = .083$; Figure 1). However, after adjusting for most significant covariates, Cox regression analysis showed rs6755229 AG/GG had a 2.5 times higher risk of death than patients with rs6755229 AA ($p = .011$; Figure 1).

IL-1R1 is the receptor of pro-inflammatory cytokines IL-1α and IL-1β [2]. The biological function of rs6755229 *IL-1R1* polymorphism is unknown. However, according to rSNPBase [6], this SNP is located upstream of the *IL-1R1*

Table 1. Demographic and clinical characteristics of septic shock patients who underwent major surgery stratified by mortality.

Characteristics	Survivors	Non-survivors	*p*-value*
No. patients	113	62	–
Age (years)	72 (61–79)	78 (69–81)	**.009**
Gender (male)	78 (69.0%)	35 (56.5%)	.134
Underlying conditions			
Hypertension	61 (54.0%)	37 (59.7%)	.571
Smoker	20 (17.7%)	11 (17.7%)	1.000
Alcoholism	5 (4.4%)	6 (9.7%)	.200
Obesity	14 (12.4%)	12 (19.4%)	.267
Diabetes	17 (15.0%)	5 (8.1%)	.236
Liver disease	3 (2.7%)	4 (6.5%)	.246
Chronic kidney disease	11 (9.7%)	17 (27.4%)	**.004**
Heart disease	48 (42.5%)	31 (50.0%)	.425
COPD	19 (16.8%)	10 (16.1%)	1.000
Cancer	25 (22.1%)	17 (27.4%)	.549
Surgery			
Cardiac (versus abdominal)	55 (48.7%)	16 (25.8%)	**.003**
Emergency (versus scheduled)	60 (53.1%)	50 (80.7%)	**<.001**
Severity			
Time to septic shock (days)	2 (0-6)	0 (0-2)	**<.001**
White Blood Cell count (*10^3 cells/mm^3)	14.6 (9.9–20.0)	14.5 (9.1–24.2)	.849
C-Reactive protein (mg/L)	238.0 (120.0–310.7)	232.0 (166.1–285.0)	.893
Procalcitonin (ng/mL)	4.9 (1.2–18.0)	5.0 (2.0–24.3)	.327
SOFA score	9 (7–10)	9 (7–11)	.210
APACHE II score	15 (13–19)	18 (15–23)	**<.001**
Microorganism isolated			
Gram-positive	62 (54.9%)	25 (40.3%)	.066
Gram-negative	66 (58.4%)	28 (45.2%)	.093
Fungus	20 (17.7%)	16 (25.8%)	.204
Source of infection			
Urinary tract infection	13 (11.5%)	6 (9.7%)	.804
Surgical site infection	31 (27.4%)	15 (24.2%)	.721
Catheter-related bacteraemia	50 (44.3%)	11 (17.7%)	**<.001**
Endocarditis	4 (3.5%)	6 (9.7%)	.169
Peritonitis	44 (38.9%)	38 (61.3%)	**.005**
Pneumonia	62 (54.9%)	22 (35.5%)	**.014**
Adequate initial empirical treatment	110 (97.4%)	60 (96.8%)	.828

Statistics: Values are expressed as the median and interquartile range (IQR) for continuous variables, and absolute count (percentage) for categorical variables. (*), *p*-values were calculated by the Chi-squared or two-tailed Fisher's exact test (categorical variables) and Mann–Whitney test for continuous variables. Significant differences are shown in bold. Note that patients may have had more than one organism cultured.
p-value: level of significance; COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; SOFA: sequential organ failure assessment; APACHE: acute physiology and chronic health evaluation.

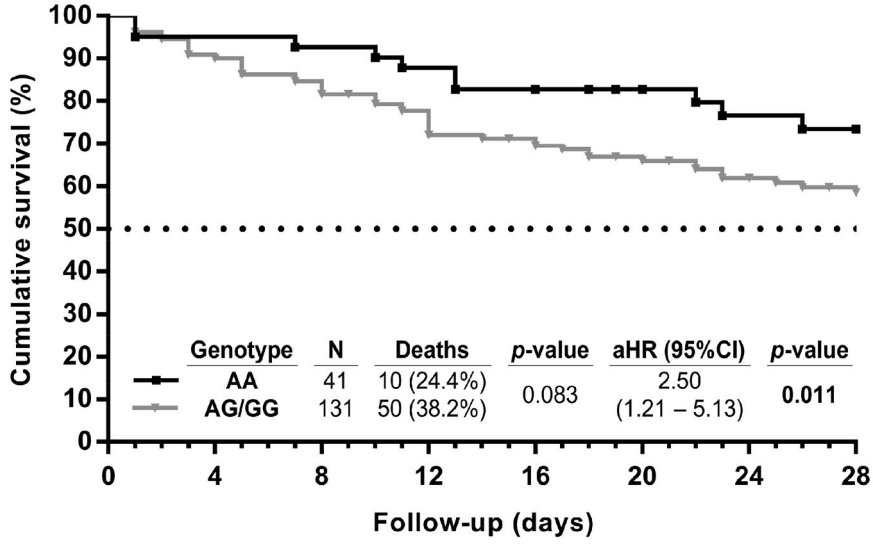


Figure 1. Survival probabilities (Kaplan–Meier product-limit method) and risk of death in septic shock patients who underwent major cardiac or abdominal surgery according to *IL-1R1* rs6755229 polymorphism. Statistics: Values are expressed as absolute count and percentage, and hazard ratio, and 95% confidence interval. Cox regression analysis was adjusted by the most significant clinical, epidemiological and genetic characteristics (see statistical analysis section). IL-1R1: Interleukin 1 receptor type 1; aHR: adjusted hazard ratio; 95%CI: 95% confidence interval; *p*-value: level of significance.

gene, within transcriptional factor binding sites and marked histone regions, which could influence the *IL-1R1* expression. Additionally, according to Blood eQTL browser (https://genenetwork.nl/bloodeqtlbrowser/), rs6755229 G allele is associated with higher IL-1 receptor type 2 (*IL-1R2*) expression levels. IL-1R2 is a decoy receptor for IL-1 mainly expressed by T cells and myeloid cells. This receptor blocks the action of IL-1, decreases inflammation, and blocks IL-1RA, a soluble factor that competes with IL-1 [7]. However, intracellular IL-1R2 can act as a transcriptional cofactor by interacting with c-Fos to promote IL-6 and VEGF expression [7]. In this regard, *IL-1R2* overexpression has been related to sepsis [8], severe sepsis [9], and sepsis-related death [10]. Therefore, the rs6755229 G allele could increase *IL-1R2* expression levels and lead to a higher inflammatory dysregulation status, which could lead to an increased risk of death for patients with rs6755229 AG/GG genotypes. However, additional studies examining *IL-1R1* polymorphisms and *IL-1R2* expression levels are necessary to confirm our findings.

Our study presents some limitations, such as it is a retrospective single-centre study with limited sample size and patients who underwent major surgery. Consequently, more prospective multicenter studies with larger sample sizes, including additional septic patients, are needed to reinforce our findings. Despite these limitations, this exploratory study suggests for the first time that *IL-1R1* rs6755229 polymorphism could significantly influence septic shock-related death at 28-days in patients undergoing major surgery.

Acknowledgments

This study would not have been possible without the collaboration of all the patients, medical and nursery staff, and data managers who have taken part in the project. We want to acknowledge the patients in this study for their participation and to the laboratory of Dr. Jesus F Bermejo-Martin for the collection of clinical samples used in this work. The authors also thank the Spanish National Genotyping Center (CEGENPRB2-ISCIII) for providing SNP genotyping services (http://www.cegen.org).

Ethical approval and consent to participate

The study was conducted according to the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of Hospital Clínico Universitario (Valladolid) and Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda). All participants provided written informed consent before sample collection. When a patient was unable to sign, a family member or legal representative of the patient gave the approval.

Author contributions

Funding body: ET and SR.

Study concept and design: MAJS, ET, and SR.

Patients' selection and clinical data acquisition: EGS, RLH, MLL, MHR, BSQ, EGP, ET.

Sample preparation, DNA isolation, and genotyping: MAJS, EJVA.

Statistical analysis and interpretation of data: FPG, MAJS, and SR.

Writing of the manuscript: FPG, MAJS, and SR.

Critical revision of the manuscript for relevant intellectual content: AFR and ET.

Supervision and visualization: SR.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

This work has been supported by grants given by Instituto de Salud Carlos III [grant number PI18/01238 to ET], "Gerencia de Salud, Consejería de Sanidad, Junta de Castilla y Leon" [grant number VA321P18, GRS 1922/A/19, GRS 2057/A/19 to ET], Fundación Ramón Areces [grant number CIVP19A5953], and PFIZER [grant number CT25-ESP01-01 to SR]. MAJS and AFR are supported by "Instituto de Salud Carlos III" [grant numbers CP17CIII/00007 and CPII20CIII/001, respectively]. CEGEN is supported by grant [PT13/0001, ISCIII-SGEFI/FEDER].

ORCID

Felipe Pérez-García http://orcid.org/0000-0002-4885-4334
Maria Ángeles Jiménez-Sousa http://orcid.org/0000-0002-1945-6169
Salvador Resino http://orcid.org/0000-0001-8783-0450

Data availability statement

The datasets used and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

References

[1] Lorente L, Martín MM, Ortiz-López R, et al. Association between serum sFasL concentrations and sepsis mortality. Infect Dis. 2021;53(1):38–43.
[2] Boraschi D, Italiani P, Weil S, et al. The family of the interleukin-1 receptors. Immunol Rev. 2018;281(1):197–232.
[3] Biondo C, Mancuso G, Midiri A, et al. Essential role of interleukin-1 signaling in host defenses against group B streptococcus. mBio. 2014;5(5):e01428–01414.
[4] Almansa R, Heredia-Rodríguez M, Gomez-Sanchez E, et al. Transcriptomic correlates of organ failure extent in sepsis. J Infect. 2015;70(5):445–456.

[5] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). JAMA. 2016;315(8):801–810.
[6] Guo L, Du Y, Qu S, et al. rVarBase: an updated database for regulatory features of human variants. Nucleic Acids Res. 2016;44(D1):D888–893.
[7] Schlüter T, Schelmbauer C, Karram K, et al. Regulation of IL-1 signaling by the decoy receptor IL-1R2. J Mol Med. 2018;96(10):983–992.
[8] Ahmad S, Singh P, Sharma A, et al. Transcriptome meta-analysis deciphers a dysregulation in immune response-associated gene signatures during sepsis. Genes. 2019; 10(12):1005.
[9] Müller B, Peri G, Doni A, et al. High circulating levels of the IL-1 type II decoy receptor in critically ill patients with sepsis: association of high decoy receptor levels with glucocorticoid administration. J Leukoc Biol. 2002;72(4): 643–649.
[10] Yimthin T, Cliff JM, Phunpang R, et al. Blood transcriptomics to characterize key biological pathways and identify biomarkers for predicting mortality in melioidosis. Emerg Microbes Infect. 2021;10(1):8–18.

Felipe Pérez-García
Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain
Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Madrid, Spain

Maria Ángeles Jiménez-Sousa
Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain
jimenezsousa@isciii.es

Esther Gómez-Sánchez and Rocío Lopez-Herrero
Departamento de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain

Amanda Fernández-Rodríguez
Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain

Mario Lorenzo-López and María Heredia-Rodríguez
Departamento de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain

Erick Joan Vidal-Alcántara
Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain

Belén Sánchez-Quirós, Estefanía Gómez-Pesquera and Eduardo Tamayo*
Departamento de Anestesiología y Reanimación, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain

Salvador Resino*
Unidad de Infección Viral e Inmunidad, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain
sresino@isciii.es

*Both authors contributed equally to this study.

Received 17 September 2021; revised 24 September 2021; accepted 27 September 2021

© 2021 Society for Scandinavian Journal of Infectious Diseases

VII. DISCUSIÓN INTEGRADORA

La sepsis constituye uno de los problemas sanitarios más importantes en todo el mundo, presentando una elevada incidencia y mortalidad (18), y suponiendo una de las primeras causas de muerte y pérdida de salud a nivel global (18). La sepsis constituye, además, uno de los motivos más frecuentes de ingreso en UCI (34), así como una importantísima carga de morbilidad para estos pacientes, objetivable tanto por el elevado número de reingresos hospitalarios tras el primer episodio, como en las elevadas cifras de mortalidad al año (38, 42, 168). Con todo esto se puede concluir que, aunque tanto la incidencia como la mortalidad por esta enfermedad se han ido reduciendo en las últimas décadas, la sepsis es prevalente, mortal y supone un elevado coste humano y para los sistemas sanitarios (19, 169).

Las definiciones actuales para la sepsis y el shock séptico (criterios ***Sepsis-3***) (1), permiten diferenciar adecuadamente a los pacientes con sepsis (infección + disfunción orgánica) de las infecciones *per se*, e incluso distinguir a un subgrupo de pacientes en los que la mortalidad es sustancialmente más alta (shock séptico). Sin embargo, existe una elevada heterogeneidad dentro de los pacientes con sepsis, que condiciona la aparición de importantes diferencias interindividuales en cuanto al desenlace de estos cuadros (125), que las definiciones ***Sepsis-3*** no son capaces de captar (20). En ese sentido, el estudio y caracterización de las variaciones interindividuales que están influenciando el desenlace de esta enfermedad así como la estratificación de los pacientes en base a ellas permitiría el uso de terapias específicas y, en definitiva, mejoraría el pronóstico de los pacientes (125).

La aproximación anteriormente mencionada formaría parte de la medicina de precisión (170). Dicha aproximación ha avanzado mucho en campos como la oncología y la hematología, con el uso de marcadores tumorales y estudios genéticos para el empleo de tratamientos específicos (171). Sin embargo, su uso en la sepsis es aún incipiente (123).

Para el desarrollo de este trabajo de tesis doctoral, se seleccionaron polimorfismos genéticos ubicados en genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata. El estudio de las bases genéticas y moleculares que caracterizan al individuo ha mostrado tener un enorme potencial para reducir la heterogeneidad en la sepsis. Esto permite por un lado conocer mejor las alteraciones específicas de la respuesta inmunitaria que presentan estos pacientes, y por otro lado entender qué procesos inmunológicos contribuyen a la recuperación de la sepsis y cuáles se asocian con una peor evolución (127, 128). En ese sentido, nuestros trabajos muestran que los polimorfismos genéticos pueden tener un papel clave en identificar aquellos pacientes que presentan *a priori* un

mayor riesgo de muerte asociada al shock séptico. Estos pacientes podrían ser subsidiarios de un seguimiento más estrecho o de emplear medidas más agresivas para evitar dichos desenlaces.

Polimorfismos de IFNL3

La presencia de polimorfismos genéticos en el gen *IFNL3* podría constituir uno de los mecanismos que modulan la inflamación y el control de patógenos en pacientes sépticos. A este respecto, el polimorfismo rs12980275 en dicho gen se relacionó con el riesgo de mortalidad a 28 días asociada al shock séptico. Concretamente, el alelo A se asoció con protección frente a este desenlace, mientras que el alelo G se relacionó con un mayor riesgo de muerte (172).

El polimorfismo rs12980275 se encuentra en una región *downstream* de los genes *IFNL3* e *IFNL4*, y podría estar implicado en la regulación de su expresión génica, ya que parece influir en el estado de la cromatina (147). Sin embargo, la búsqueda de la mutación causal dentro del gen *IFNL* es complicada, ya que los SNPs que se encuentran dentro del gen *IFNL3* están en elevado desequilibrio de ligamiento con otros SNPs en *IFNL4*. Debido a esto, la relación entre los SNPs de *IFNL3* y los niveles plasmáticos de IFNL3 aún no está clara, y los diferentes estudios al respecto han obtenido resultados discrepantes (148, 152). Además, los SNPs de *IFNL3* se han asociado con la expresión diferencial de distintos ISGs, lo que sugiere que la respuesta inmunitaria podría verse afectada por la presencia de estos SNPs de *IFNL3* (148, 149, 152). Esto último parece que también podría estar relacionado con otros SNPs que regulan la producción de *IFNL4* (152). Así, tal y como proponen Bhushan *et al*., (152), la presencia de los alelos mayoritarios de *IFNL3* (alelo C rs12979860 y alelo A de rs12980275, entre otros) se asocian al genotipo TT del SNP rs11322783 de *IFNL4* (anteriormente llamado rs368234815), que evita la expresión de una proteína IFNL4 funcional, generando un conjunto de ISGs que podrían dar lugar a un fenotipo protector contra la infección (152). Por otro lado, la presencia de los alelos minoritarios de *IFNL3* (alelo T rs12979860 y alelo G de rs12980275, entre otros), se asocian con el alelo rs11322783 ΔG de *IFNL4*, que es responsable de la expresión de una proteína IFNL4 completamente funcional, generando otro conjunto de ISGs que podrían desembocar en un fenotipo de riesgo frente a la infección.

Por todo lo dicho anteriormente, y tal y como muestran nuestros hallazgos, se puede concluir que el genotipo AA de rs12980275 en el gen *IFNL3* se asocia con una reducción de la mortalidad en pacientes con shock séptico. Sin embargo, son necesarios más estudios que expliquen el papel del polimorfismo rs12980275 de *IFNL3* en la sepsis.

Polimorfismos de OLFM4

En cuanto a los polimorfismos de *OLFM4*, encontramos que el alelo A en el SNP rs17552047 se asoció con protección frente a la muerte en pacientes con shock séptico (173). Además, la combinación de dicho SNP con una serie de variables clínicas nos permitió construir un modelo con un buen poder predictivo (AUROC>0,8) para muerte relacionada con shock séptico.

OLFM4 es un marcador de subpoblaciones de neutrófilos (153), cuya función aún no se ha dilucidado por completo. Sin embargo, se sabe que, en los neutrófilos, OLFM4 inhibe la activación de varias proteasas granulares, incluidas las catepsinas y la elastasa (154). Además, diferentes modelos *in vivo* han demostrado que los ratones a los que se les había eliminado la expresión del gen *OLFM4* estaban protegidos frente a la muerte tras una inyección intraperitoneal de bacterias, en comparación con el grupo control, a consecuencia de una mayor actividad de distintas proteasas (elastasa, catepsina G y proteinasa 3) que les otorgaba una mayor capacidad de eliminar dichas bacterias (174, 175). Otros estudios también han revelado que la eliminación del gen *OLFM4* mejoraba la defensa contra la infección por *S. aureus*, mediante el aumento de las actividades de la catepsina C, elastasa y la catepsina G, y niveles séricos más altos de citocinas proinflamatorias como IL-1β e IL-6 (174). Finalmente, *OLFM4* regula negativamente la vía de *NF-κB*, disminuyendo la respuesta inmunitaria innata contra las infecciones bacterianas (174).

Por otro lado, la función biológica del polimorfismo rs17552047 de *OLFM4* también se desconoce. Este polimorfismo está relacionado con una región de regulación transcripcional proximal del gen *OLFM4*. Según rSNPBase (147), la región que rodea a rs17552047 parece estar involucrada en la modificación de histonas (por ejemplo metilaciones, como H4K20me1) en diferentes tipos celulares, modulando el estado de la cromatina y, por tanto, la accesibilidad de esta región a la maquinaria de expresión génica. Además, el SNP rs17552047 se ha identificado como un loci de rasgos cuantitativos de expresión (*expression quantitative trait loci* – eQTL) del gen que codifica para la proteína quinasa gamma de unión al ciclo de división celular 42 (*CDC42-binding protein kinase gamma* – *CDC42BPG*), que es un efector *downstream* de CDC42 en la reorganización del citoesqueleto (http://www.proteinatlas.org/). CDC42 juega un papel importante en la fagocitosis a través de la organización del citoesqueleto de actina F, asociándose con la formación de copas fagocíticas (176) y se ha relacionado con la sepsis en varios estudios (177, 178).

Por todo esto, la asociación entre el SNP rs17552047 y la protección frente a la muerte en pacientes con shock séptico podría explicarse por dos posibles mecanismos: i) debido a una reducción en la expresión de *OLFM4* mediante una modificación en las histonas, lo cual favorecería la síntesis de distintas proteasas con actividad antimicrobiana (especialmente en el contexto de las NETs); ii) alterando la expresión de CDC42BPG, lo cual podría mejorar la actividad fagocítica. Ambos mecanismos darían lugar a un mejor control de la infección, sin embargo, se necesitan estudios adicionales que analicen el polimorfismo rs17552047 de *OLFM4* junto con los niveles séricos de OLFM4 y la actividad fagocítica de los neutrófilos en pacientes con shock séptico y su relación con la mortalidad para confirmar estas hipótesis.

Finalmente, hay que destacar que en este estudio se evaluó también la utilidad de un modelo predictivo de mortalidad basado en variables clínicas que incorporase además los SNPs de *OLFM4*, usando para ello curvas AUROC. En nuestro trabajo, el modelo con las variables clínicas más significativas mostró un poder predictivo justo (AUROC=0,776) para predecir la mortalidad. Cuando se agregaron los SNPs de *OLFM4*, el modelo alcanzó un buen rendimiento diagnóstico (AUROC=0,811), que también se reflejó en unos valores predictivos negativo (VPN) y positivo (VPP) superiores al 80%. Sin embargo, la diferencia entre el primer y el segundo modelo no alcanzó la significación estadística (p=0,065), posiblemente debido a un tamaño muestral limitado. A pesar de esto, se pudo comprobar que la adición de los SNPs de *OLFM4* a un modelo predictivo de mortalidad podría ser útil para discriminar pacientes que podían morir debido al shock séptico.

Polimorfismos de CEACAM7

Encontramos un total de tres SNPs relacionados con la muerte asociada al shock séptico (179). Concretamente, los genotipos CG/GG de rs10409040 y AA de rs889365 se asociaron con una mayor mortalidad, mientras que el genotipo CT/TT de rs1001578 se relacionó con una mayor supervivencia.

El gen *CEACAM7* codifica una proteína de esta superfamilia relacionada estructuralmente con las inmunoglobulinas, que está involucrada en la regulación de la diferenciación celular normal, expresándose mayoritariamente (aunque no exclusivamente) en las células epiteliales de los conductos pancreáticos y en las células epiteliales colorrectales, y se ha relacionado en muchos estudios con el carcinoma colorrectal (164).

En cuanto a los SNPs de *CEACAM7* analizados, su función fisiológica no se comprende completamente. Tal y como se describe en la página web de *GTEx Portal* (*Genotype-Tissue Expression Portal*, https://gtexportal.org/), una web que permite estudiar la expresión y regulación de genes humanos y su relación con la variación genética, los SNPs de *CEACAM7* evaluados en este estudio parecen estar involucrados en la regulación de la expresión génica de varios *CEACAM*, no solo de *CEACAM7*. De acuerdo con esto, rs10409040 se encuentra en una región *upstream* de varios genes *CEACAM*, como por ejemplo *CEACAM4* y *CEACAM7* y los genotipos CG/GG de rs10409040 parecen asociarse con una menor expresión de *CEACAM4* en sangre. CEACAM4 se comporta como un receptor presente en los neutrófilos, cuya activación desencadena la fagocitosis de las bacterias (160), y en diversos estudios se ha visto que la expresión de *CEACAM4* se encuentra reducida en pacientes con sepsis, comparados con un grupo control sin sepsis (180). En este sentido, una disminución en los niveles de expresión de *CEACAM4* secundaria a la presencia de los genotipos CG/GG de rs10409040 en pacientes sépticos podría llevar a un peor control de la infección, lo que explicaría una mayor mortalidad en estos pacientes.

Por otro lado, según la información proporcionada por la página web de *GeneNetwork*, una base de datos que permite predecir las consecuencias fenotípicas de las mutaciones genéticas y que utiliza para ello datos públicos de transcriptómica obtenidos a partir de más de 31.000 muestras (*GeneNetwork*, https://genenetwork.nl/bloodeqtlbrowser/) (181), el genotipo CT/TT de rs1001578 se ha relacionado con una menor expresión de *CEACAM7* en mucosa esofágica y una menor expresión de *CEACAM6* en la sangre. CEACAM6 ha sido descrito como un receptor para diferentes patógenos que media la adhesión e invasión celular (163). De acuerdo con esto, una disminución en la expresión de *CEACAM6* debido a la presencia de los genotipos CT/TT de rs1001578 en sangre podría acompañarse de una reducción en la mortalidad en la sepsis, al reducir el número de receptores que median el acoplamiento de las bacterias, reduciendo así su adhesión y su patogenicidad.

Por último, en cuanto al genotipo AA de rs889365, éste se ha relacionado con la sobreexpresión de *CEACAM7* en la mucosa esofágica. Aunque CEACAM7 aún no se había descrito como un receptor para microorganismos patógenos, este papel se ha sugerido para el SARS-CoV-2 (162). De forma opuesta al polimorfismo rs1001578, un aumento del número de sitios de acoplamiento y adhesión en la mucosa para diferentes patógenos podría asociarse con un aumento de patogenicidad en los pacientes sépticos (158).

Todas estas hipótesis para tratar de explicar la relación entre los SNPs de *CEACAM7* y la mortalidad en los pacientes con shock séptico se encuentran respaldadas por dos grandes bases de datos de consenso, que brindan información sobre la expresión y la regulación génica (*GTEx Portal* y *GeneNetwork*) (181). Sin embargo, se necesitan más estudios enfocados en transcriptómica que analicen estos SNPs junto con los niveles de expresión de *CEACAM4*, *CEACAM6* y *CEACAM7* en pacientes con shock séptico, de cara a poder confirmar nuestras hipótesis. De igual forma, sería muy interesante estudiar el impacto de estos polimorfismos en otras entidades que pueden tener un curso clínico similar a la sepsis, como por ejemplo los cuadros graves de COVID-19.

Polimorfismos de IL-1R1

Finalmente, en lo que respecta a *IL-1R1*, en nuestro estudio encontramos que los pacientes con genotipo AG/GG en el polimorfismo rs6755229 presentaban una mayor mortalidad a 28 días que los pacientes con genotipo AA, señalando por primera vez que este polimorfismo podría influir en la mortalidad secundaria a shock séptico. El receptor IL-1R1 se expresa en múltiples tipos celulares (linfocitos T, células epiteliales y endoteliales y fibroblastos, entre otros), siendo muy importante en la respuesta inmunitaria innata, al servir de receptor para las citocinas proinflamatorias IL-1α e IL-1β (166). Sin embargo, la función biológica concreta del polimorfismo rs6755229 de *IL-1R1* es desconocida. De acuerdo con rSNPBase (147), este SNP se encuentra ubicado en regiones de unión a histonas y factores de transcripción, *upstream* del gen *IL-1R1*, lo cual podría afectar a los niveles de expresión de *IL-1R1*. Además, el alelo G de rs6755229 parece asociarse con un aumento en los niveles de expresión del receptor de IL-1 tipo 2 (IL-1R2) (181). *IL-1R2* se expresa fundamentalmente en los linfocitos T y las células mieloides, y actúa como un receptor señuelo para IL-1. Así, IL-1R2 bloquea la acción de IL-1, disminuyendo la inflamación y también bloquea IL-1RA, el antagonista de IL-1 que compite con la IL-1 (167). Asimismo, a nivel intracelular IL-1R2 puede actuar como un cofactor transcripcional, promoviendo la expresión de diferentes proteínas, incluyendo IL-6 (167). En este sentido, la sobreexpresión de *IL-1R2* se ha relacionado con diferentes estadios de la sepsis (182, 183), así como con la mortalidad asociada a la sepsis (184).

Teniendo todo esto en cuenta, el alelo G de rs6755229 podría relacionarse con la mortalidad en los pacientes con shock séptico por dos posibles mecanismos: i) una alteración en los niveles de expresión de *IL-1R1*; ii) un aumento en los niveles de expresión de *IL-1R2*. Ambas circunstancias podrían conducir a un mayor estado de desregulación inflamatoria, desembocando en un mayor riesgo de muerte para los

pacientes con genotipos AG/GG en rs6755229. Sin embargo, se necesitarían estudios adicionales que analicen los polimorfismos de *IL-1R1* junto con los niveles de expresión de IL-1R1 e IL-1R2 para confirmar nuestros hallazgos.

Limitaciones

Los artículos que comprenden esta tesis doctoral han sido los primeros que han señalado la posible relación entre los SNPs en los genes *IFNL3*, *OLFM4*, *CEACAM7* e *IL-1R1* y la mortalidad asociada a shock séptico postquirúrgico. Sin embargo, pese a lo novedoso de estos trabajos, presentan una serie de limitaciones comunes que es necesario señalar, de cara a poner en contexto sus resultados y valorar la aplicabilidad de éstos.

En primer lugar, estos estudios tuvieron un diseño retrospectivo, por lo que les son de aplicación las limitaciones inherentes a este tipo de estudios, como la posibilidad de aparición de sesgos, una menor calidad de los datos recogidos o un incompleto control de las posibles variables de confusión. Además, los cuatro estudios fueron llevados a cabo sobre la misma cohorte de pacientes en un solo hospital, incluyendo únicamente sujetos que fueron sometidos a cirugía mayor cardiaca o abdominal y que desarrollaron un shock séptico tras la cirugía. Debido a esto, nuestras conclusiones no pueden generalizarse a otros pacientes sépticos. Para superar estas limitaciones, serían necesarios otros estudios prospectivos y multicéntricos, en los que se incluyeran pacientes ingresados tanto en UCIs quirúrgicas como médicas.

Por otro lado, el tamaño muestral fue limitado, lo cual pudo comprometer el poder estadístico de nuestros análisis. Esto podría explicar por ejemplo que, en el análisis de supervivencia del SNP rs1001578 de *CEACAM7*, el *log-rank test* estuvo cerca de alcanzar la significación estadística (p=0,058), mientras que sí resultó significativa la regresión de Cox multivariante (p=0,034) (179). De igual modo, podría explicar que en el análisis de supervivencia del SNP rs6755229 de *IL-1R1*, el *log-rank test* no fue significativo (p=0,083) pero la regresión de Cox sí (p=0,011) (185). Finalmente, también este tamaño muestral limitado pudo estar implicado en que la mejora del modelo predictivo de mortalidad que incorporaba los SNPs de *OLFM4* a las variables clínicas (173) no llegase a alcanzar la significación estadística (p=0,065), a pesar de suponer un aumento en el rendimiento diagnóstico del modelo inicial, formado solo por las variables clínicas. Por todo esto, se necesitarían estudios adicionales con un mayor número de pacientes para confirmar nuestros resultados, así como para evaluar si la falta de

asociación de otros polimorfismos ubicados en los genes estudiados fue debida también al limitado tamaño muestral.

En tercer lugar, el análisis de supervivencia se realizó con un solo punto de censura para la mortalidad de 28 días. Éste es el punto de corte más frecuentemente utilizado para establecer la mortalidad asociada con la sepsis (17, 24, 45, 186). Sin embargo, serían interesantes estudios futuros que analicen si la presencia de estos polimorfismos genéticos puede influir en las consecuencias a largo plazo de la sepsis, tales como la aparición de eventos cardiovasculares o la mortalidad al cabo de un año tras el episodio (40).

Finalmente, otro análisis interesante que permitiría poner en contexto nuestros resultados sería realizar estudios de transcriptómica en estos pacientes incluyendo, junto con el estudio de estos SNPs, los niveles de expresión de los genes que podrían estar implicados (por ejemplo, el SNP rs6755229 de *IL-1R1* junto con los niveles de expresión de IL-1R1 e IL-1R2), de cara a corroborar el papel funcional de estos SNPs en la expresión génica, así como para comprobar las distintas hipótesis que se han ido formulando a lo largo de esta discusión en lo relativo a la asociación entre los diferentes SNPs y la mortalidad. Estos estudios servirían no solo para confirmar nuestros resultados, sino también para poder esclarecer el mecanismo exacto por el que estos polimorfismos ejercen su influencia a la hora de ser factores de riesgo o protectores frente a mortalidad.

Futuro del manejo de la sepsis y el shock séptico

Han pasado ya más de 30 años desde que surgieran las primeras definiciones clínicas de la sepsis, pero la medicina de precisión sigue teniendo una cuenta pendiente con esta entidad, que sigue presentando un espectro clínico difuso y heterogéneo (187). Es de justicia señalar que, en el año 2002 en la Declaración de Barcelona, en el mismo sitio donde nació la SSC, el entonces presidente de la ESICM, el Prof. Graham Ramsay, pronunció unas palabras que aún hoy en día mantienen su vigencia: "*hoy tenemos la tecnología y los recursos para tratar la mayoría de las afecciones y lesiones, pero la infección, que ha estado matando personas desde el comienzo de la historia, todavía nos derrota*".

A lo largo de las últimas tres décadas, se han producido grandes avances en la comprensión de la inmunología de la sepsis. Sin embargo, dichos avances no se han traducido en la aparición de tratamientos efectivos para esta entidad (20). Un número creciente de investigaciones está tratando de revelar la complejidad de la

inmunopatogenia de la sepsis mediante el estudio de datos genómicos vinculados con la respuesta inmunitaria (188). En el caso de los SNPs en genes relacionados con la respuesta inmunitaria, el conocimiento del *background* genético de estos pacientes podría ser uno más de los criterios que sirvan para guiar la selección de los tratamientos más adecuados, así como para la estratificación de los pacientes según el riesgo de complicaciones. En ese sentido, diversos estudios, incluidos los que componen esta tesis doctoral (como el de los polimorfismos de *OLFM4*) han señalado que la incorporación de estos SNPs a modelos predictivos de mortalidad puede ser útil, de cara a mejorar el rendimiento diagnóstico de estos modelos (143, 173).

Por todo esto, el futuro del manejo de la sepsis y el shock séptico, incluyendo el empleo de las terapias inmunológicas específicas para estas entidades pasa necesariamente por dedicar recursos a aumentar nuestro conocimiento sobre ellas. En ese sentido, el estudio y la caracterización de polimorfismos genéticos que puedan asociarse con una mejor o peor evolución es uno de los múltiples caminos que pueden llevar a la meta propuesta por la SSC desde su fundación en Barcelona en 2002: reducir la mortalidad y morbilidad de la sepsis y el shock séptico en todo el mundo.

VIII. CONCLUSIONES

En relación con el estudio de polimorfismos en genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata y su relación con la mortalidad asociada a shock séptico en pacientes sometidos a cirugía mayor, las conclusiones obtenidas son las siguientes:

1. **Respecto a los polimorfismos en el gen *IFNL3* (Artículo 1):**
    a. El polimorfismo rs12980275 del gen IFNL3 se relacionó con el riesgo de mortalidad a 28 días. El alelo A se asoció con protección frente a dicho desenlace, mientras que el alelo G se asoció con un mayor riesgo de muerte.
2. **Respecto a los polimorfismos en el gen *OLFM4* (Artículo 2):**
    a. De los siete polimorfismos genéticos estudiados, solo el polimorfismo rs17552047 se relacionó con la mortalidad asociada a shock séptico. La presencia del alelo A se relacionó con una mayor supervivencia a 28 días.
    b. La adición del polimorfismo rs17552047 a un modelo predictivo para muerte asociada con shock séptico formado solo por variables clínicas mejoró el poder predictivo de éste. Sin embargo, la diferencia entre el rendimiento diagnóstico de ambos modelos no llegó a ser estadísticamente significativa.
3. **Respecto a los polimorfismos en el gen *CEACAM7* (Artículo 3):**
    a. De los cuatro polimorfismos seleccionados, se encontraron tres polimorfismos que se relacionaron con la muerte a 28 días en estos pacientes.
    b. Los genotipos CG/GG del polimorfismo rs10409040 y AA del polimorfismo rs889365 se asociaron con un incremento significativo de la mortalidad. El genotipo CT/TT del polimorfismo rs1001578 se relacionó con una mayor supervivencia.
4. **Respecto a los polimorfismos en el gen *IL-1R1* (Artículo 4):**
    a. De entre los tres polimorfismos seleccionados, solo uno (el polimorfismo rs6755229) se relacionó con la mortalidad a 28 días en nuestra población de estudio. Los pacientes con genotipos AG/GG presentaron una mayor mortalidad que los pacientes con genotipo AA.

Como conclusión global, en nuestros estudios encontramos que la presencia de varios polimorfismos en genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata se asoció con diferencias en la mortalidad de los pacientes con shock séptico tras una cirugía mayor.

IX. REFERENCIAS

1. 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.

2. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word "sepsis". Intensive Care Med. 2006;32(12):2077.

3. Majno G. The ancient riddle of sigma eta psi iota sigma (sepsis). J Infect Dis. 1991;163(5):937-45.

4. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992;101(6):1644-55.

5. Gul F, Arslantas MK, Cinel I, Kumar A. Changing Definitions of Sepsis. Turk J Anaesthesiol Reanim. 2017;45(3):129-38.

6. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R. Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. N Engl J Med. 2015;372(17):1629-38.

7. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Intensive Care Med. 2003;29(4):530-8.

8. Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions: time for change. Lancet. 2013;381(9868):774-5.

9. Churpek MM, Zadravecz FJ, Winslow C, Howell MD, Edelson DP. Incidence and Prognostic Value of the Systemic Inflammatory Response Syndrome and Organ Dysfunctions in Ward Patients. Am J Respir Crit Care Med. 2015;192(8):958-64.

10. Rello J, Valenzuela-Sanchez F, Ruiz-Rodriguez M, Moyano S. Sepsis: A Review of Advances in Management. Adv Ther. 2017;34(11):2393-411.

11. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, et al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8):775-87.

12. Minne L, Abu-Hanna A, de Jonge E. Evaluation of SOFA-based models for predicting mortality in the ICU: A systematic review. Crit Care. 2008;12(6):R161.

13. Doerr F, Badreldin AM, Heldwein MB, Bossert T, Richter M, Lehmann T, et al. A comparative study of four intensive care outcome prediction models in cardiac surgery patients. J Cardiothorac Surg. 2011;6:21.

14. Vincent JL, de Mendonca A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. Crit Care Med. 1998;26(11):1793-800.

15. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ

dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. Intensive Care Med. 1996;22(7):707-10.

16. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8):762-74.

17. Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, Francois B, Martin-Loeches I, Lipman J, et al. Assessment of the worldwide burden of critical illness: the intensive care over nations (ICON) audit. Lancet Respir Med. 2014;2(5):380-6.

18. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. Lancet. 2020;395(10219):200-11.

19. Alvaro-Meca A, Jimenez-Sousa MA, Micheloud D, Sanchez-Lopez A, Heredia-Rodriguez M, Tamayo E, et al. Epidemiological trends of sepsis in the twenty-first century (2000-2013): an analysis of incidence, mortality, and associated costs in Spain. Popul Health Metr. 2018;16(1):4.

20. van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis. Immunity. 2021;54(11):2450-64.

21. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. Lancet. 2018;392(10141):75-87.

22. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. Crit Care Med. 2006;34(2):344-53.

23. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. JAMA. 2009;302(21):2323-9.

24. Vincent JL, Lefrant JY, Kotfis K, Nanchal R, Martin-Loeches I, Wittebole X, et al. Comparison of European ICU patients in 2012 (ICON) versus 2002 (SOAP). Intensive Care Med. 2018;44(3):337-44.

25. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. Lancet. 2011;377(9773):1264-75.

26. Cilloniz C, Dominedo C, Magdaleno D, Ferrer M, Gabarrus A, Torres A. Pure Viral Sepsis Secondary to Community-Acquired Pneumonia in Adults: Risk and Prognostic Factors. J Infect Dis. 2019;220(7):1166-71.

27. Gu X, Zhou F, Wang Y, Fan G, Cao B. Respiratory viral sepsis: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and treatment. Eur Respir Rev. 2020;29(157).

28. Bermejo-Martin JF, Gonzalez-Rivera M, Almansa R, Micheloud D, Tedim AP, Dominguez-Gil M, et al. Viral RNA load in plasma is associated with critical illness and a dysregulated host response in COVID-19. Crit Care. 2020;24(1):691.

29. Torres A, Motos A, Cilloniz C, Ceccato A, Fernandez-Barat L, Gabarrus A, et al. Major candidate variables to guide personalised treatment with steroids in critically ill patients with COVID-19: CIBERESUCICOVID study. Intensive Care Med. 2022;48(7):850-64.

30. Gupta S, Sakhuja A, Kumar G, McGrath E, Nanchal RS, Kashani KB. Culture-Negative Severe Sepsis: Nationwide Trends and Outcomes. Chest. 2016;150(6):1251-9.

31. 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):1181-247.

32. Rhee C, Dantes R, Epstein L, Murphy DJ, Seymour CW, Iwashyna TJ, et al. Incidence and Trends of Sepsis in US Hospitals Using Clinical vs Claims Data, 2009-2014. JAMA. 2017;318(13):1241-9.

33. Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, Cassini A, Rudd KE, Schlattmann P, et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. Intensive Care Med. 2020;46(8):1552-62.

34. Genga KR, Russell JA. Update of Sepsis in the Intensive Care Unit. J Innate Immun. 2017;9(5):441-55.

35. Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, Ferreira EM, Angotti Carrara FS, Sousa JL, et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. Lancet Infect Dis. 2017;17(11):1180-9.

36. Shankar-Hari M, Harrison DA, Rubenfeld GD, Rowan K. Epidemiology of sepsis and septic shock in critical care units: comparison between sepsis-2 and sepsis-3 populations using a national critical care database. Br J Anaesth. 2017;119(4):626-36.

37. Shankar-Hari M, Saha R, Wilson J, Prescott HC, Harrison D, Rowan K, et al. Rate and risk factors for rehospitalisation in sepsis survivors: systematic review and meta-analysis. Intensive Care Med. 2020;46(4):619-36.

38. Prescott HC, Angus DC. Enhancing Recovery From Sepsis: A Review. JAMA. 2018;319(1):62-75.

39. Prescott HC, Osterholzer JJ, Langa KM, Angus DC, Iwashyna TJ. Late mortality after sepsis: propensity matched cohort study. BMJ. 2016;353:i2375.

40. Shankar-Hari M, Harrison DA, Ferrando-Vivas P, Rubenfeld GD, Rowan K. Risk Factors at Index Hospitalization Associated With Longer-term Mortality in Adult Sepsis Survivors. JAMA Netw Open. 2019;2(5):e194900.

41. Shankar-Hari M, Ambler M, Mahalingasivam V, Jones A, Rowan K, Rubenfeld GD. Evidence for a causal link between sepsis and long-term mortality: a systematic review of epidemiologic studies. Crit Care. 2016;20:101.

42. Courtright KR, Jordan L, Murtaugh CM, Barron Y, Deb P, Moore S, et al. Risk Factors for Long-term Mortality and Patterns of End-of-Life Care Among Medicare Sepsis Survivors Discharged to Home Health Care. JAMA Netw Open. 2020;3(2):e200038.

43. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. BMJ. 2016;353:i1585.

44. Prescott HC, Sussman JB, Wiersinga WJ. Postcritical illness vulnerability. Curr Opin Crit Care. 2020;26(5):500-7.

45. Arvaniti K, Dimopoulos G, Antonelli M, Blot K, Creagh-Brown B, Deschepper M, et al. Epidemiology and Age-Related Mortality in Critically Ill Patients With Intra-Abdominal Infection or Sepsis: An International Cohort Study. Int J Antimicrob Agents. 2022;60(1):106591.

46. Deutschman CS, Tracey KJ. Sepsis: current dogma and new perspectives. Immunity. 2014;40(4):463-75.

47. Marshall JC. Why have clinical trials in sepsis failed? Trends Mol Med. 2014;20(4):195-203.

48. Fernando SM, Tran A, Taljaard M, Cheng W, Rochwerg B, Seely AJE, et al. Prognostic Accuracy of the Quick Sequential Organ Failure Assessment for Mortality in Patients With Suspected Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. Ann Intern Med. 2018;168(4):266-75.

49. Serafim R, Gomes JA, Salluh J, Povoa P. A Comparison of the Quick-SOFA and Systemic Inflammatory Response Syndrome Criteria for the Diagnosis of Sepsis and Prediction of Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. Chest. 2018;153(3):646-55.

50. Herwanto V, Shetty A, Nalos M, Chakraborty M, McLean A, Eslick GD, et al. Accuracy of Quick Sequential Organ Failure Assessment Score to Predict Sepsis Mortality in 121 Studies Including 1,716,017 Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis. Crit Care Explor. 2019;1(9):e0043.

51. Smith GB, Prytherch DR, Meredith P, Schmidt PE, Featherstone PI. The ability of the National Early Warning Score (NEWS) to discriminate patients at risk of early cardiac arrest, unanticipated intensive care unit admission, and death. Resuscitation. 2013;84(4):465-70.

52. Subbe CP, Kruger M, Rutherford P, Gemmel L. Validation of a modified Early Warning Score in medical admissions. QJM. 2001;94(10):521-6.

53. Churpek MM, Snyder A, Han X, Sokol S, Pettit N, Howell MD, et al. Quick Sepsis-related Organ Failure Assessment, Systemic Inflammatory Response Syndrome, and Early Warning Scores for Detecting Clinical Deterioration in Infected Patients outside the Intensive Care Unit. Am J Respir Crit Care Med. 2017;195(7):906-11.

54. Liu VX, Lu Y, Carey KA, Gilbert ER, Afshar M, Akel M, et al. Comparison of Early Warning Scoring Systems for Hospitalized Patients With and Without Infection at Risk for In-Hospital Mortality and Transfer to the Intensive Care Unit. JAMA Netw Open. 2020;3(5):e205191.

55. Wang C, Xu R, Zeng Y, Zhao Y, Hu X. A comparison of qSOFA, SIRS and NEWS in predicting the accuracy of mortality in patients with suspected sepsis: A meta-analysis. PLoS One. 2022;17(4):e0266755.

56. Slade E, Tamber PS, Vincent JL. The Surviving Sepsis Campaign: raising awareness to reduce mortality. Crit Care. 2003;7(1):1-2.

57. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Intensive Care Med. 2004;30(4):536-55.

58. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. Intensive Care Med. 2008;34(1):17-60.

59. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. Crit Care Med. 2013;41(2):580-637.

60. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. Crit Care Med. 2017;45(3):486-552.

61. Sanabria AJ, Rigau D, Rotaeche R, Selva A, Marzo-Castillejo M, Alonso-Coello P. [GRADE: Methodology for formulating and grading recommendations in clinical practice]. Aten Primaria. 2015;47(1):48-55.

62. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Executive Summary: Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for the Management of Sepsis and Septic Shock 2021. Crit Care Med. 2021;49(11):1974-82.

63. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. Intensive Care Med. 2018;44(6):925-8.

64. Rubio I, Osuchowski MF, Shankar-Hari M, Skirecki T, Winkler MS, Lachmann G, et al. Current gaps in sepsis immunology: new opportunities for translational research. Lancet Infect Dis. 2019;19(12):e422-e36.

65. Lazzaro A, De Girolamo G, Filippi V, Innocenti GP, Santinelli L, Ceccarelli G, et al. The Interplay between Host Defense, Infection, and Clinical Status in Septic Patients: A Narrative Review. Int J Mol Sci. 2022;23(2):803.

66. Murphy K, Weaver C, Mowat A, Berg B, Chaplin D. Janeway's immunobiology. 9th ed: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC; 2017. 927 p.

67. Kumar S, Ingle H, Prasad DV, Kumar H. Recognition of bacterial infection by innate immune sensors. Crit Rev Microbiol. 2013;39(3):229-46.

68. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. Nat Rev Immunol. 2017;17(7):407-20.

69. Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome. Immunol Rev. 2016;274(1):330-53.

70. Ricklin D, Lambris JD. Preformed mediators of defense-Gatekeepers enter the spotlight. Immunol Rev. 2016;274(1):5-8.

71. Jarczak D, Kluge S, Nierhaus A. Sepsis-Pathophysiology and Therapeutic Concepts. Front Med (Lausanne). 2021;8:628302.

72. Christie MJ, Irving AT, Forster SC, Marsland BJ, Hansbro PM, Hertzog PJ, et al. Of bats and men: Immunomodulatory treatment options for COVID-19 guided by the immunopathology of SARS-CoV-2 infection. Sci Immunol. 2021;6(63):eabd0205.

73. Tamayo E, Fernandez A, Almansa R, Carrasco E, Heredia M, Lajo C, et al. Pro- and anti-inflammatory responses are regulated simultaneously from the first moments of septic shock. Eur Cytokine Netw. 2011;22(2):82-7.

74. Dominguez-Andres J, Netea MG. Long-term reprogramming of the innate immune system. J Leukoc Biol. 2019;105(2):329-38.

75. Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, van der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. Virulence. 2014;5(1):36-44.

76. van Hinsbergh VW. Endothelium-role in regulation of coagulation and inflammation. Semin Immunopathol. 2012;34(1):93-106.

77. Sang Y, Roest M, de Laat B, de Groot PG, Huskens D. Interplay between platelets and coagulation. Blood Rev. 2021;46:100733.

78. Kruger-Genge A, Blocki A, Franke RP, Jung F. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update. Int J Mol Sci. 2019;20(18):4411.

79. Merle NS, Noe R, Halbwachs-Mecarelli L, Fremeaux-Bacchi V, Roumenina LT. Complement System Part II: Role in Immunity. Front Immunol. 2015;6:257.

80. Cabrera-Perez J, Condotta SA, James BR, Kashem SW, Brincks EL, Rai D, et al. Alterations in antigen-specific naive CD4 T cell precursors after sepsis impairs their responsiveness to pathogen challenge. J Immunol. 2015;194(4):1609-20.

81. Xu R, Lin F, Bao C, Huang H, Ji C, Wang S, et al. Complement 5a receptor-mediated neutrophil dysfunction is associated with a poor outcome in sepsis. Cell Mol Immunol. 2016;13(1):103-9.

82. Vlaar APJ, de Bruin S, Busch M, Timmermans S, van Zeggeren IE, Koning R, et al. Anti-C5a antibody IFX-1 (vilobelimab) treatment versus best supportive care for patients with severe COVID-19 (PANAMO): an exploratory, open-label, phase 2 randomised controlled trial. Lancet Rheumatol. 2020;2(12):e764-e73.

83. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. Nat Rev Immunol. 2013;13(1):34-45.

84. van der Poll T, Herwald H. The coagulation system and its function in early immune defense. Thromb Haemost. 2014;112(4):640-8.

85. Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. Thromb Res. 2017;149:38-44.

86. Iba T, Levi M, Levy JH. Sepsis-Induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. Semin Thromb Hemost. 2020;46(1):89-95.

87. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. Science. 2004;303(5663):1532-5.

88. Li P, Li M, Lindberg MR, Kennett MJ, Xiong N, Wang Y. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. J Exp Med. 2010;207(9):1853-62.

89. Zucoloto AZ, Jenne CN. Platelet-Neutrophil Interplay: Insights Into Neutrophil Extracellular Trap (NET)-Driven Coagulation in Infection. Front Cardiovasc Med. 2019;6:85.

90. Czaikoski PG, Mota JM, Nascimento DC, Sonego F, Castanheira FV, Melo PH, et al. Neutrophil Extracellular Traps Induce Organ Damage during Experimental and Clinical Sepsis. PLoS One. 2016;11(2):e0148142.

91. McDonald B, Davis RP, Kim SJ, Tse M, Esmon CT, Kolaczkowska E, et al. Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice. Blood. 2017;129(10):1357-67.

92. Cox LE, Walstein K, Vollger L, Reuner F, Bick A, Dotsch A, et al. Neutrophil extracellular trap formation and nuclease activity in septic patients. BMC Anesthesiol. 2020;20(1):15.

93. Camicia G, Pozner R, de Larranaga G. Neutrophil extracellular traps in sepsis. Shock. 2014;42(4):286-94.

94. Otto GP, Sossdorf M, Claus RA, Rodel J, Menge K, Reinhart K, et al. The late phase of sepsis is characterized by an increased microbiological burden and death rate. Crit Care. 2011;15(4):R183.

95. Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. JAMA. 2011;306(23):2594-605.

96. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent JL. Sepsis and septic shock. Nat Rev Dis Primers. 2016;2:16045.

97. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. Nat Rev Immunol. 2013;13(12):862-74.

98. Shankar-Hari M, Fear D, Lavender P, Mare T, Beale R, Swanson C, et al. Activation-Associated Accelerated Apoptosis of Memory B Cells in Critically Ill Patients With Sepsis. Crit Care Med. 2017;45(5):875-82.

99. Gustave CA, Gossez M, Demaret J, Rimmele T, Lepape A, Malcus C, et al. Septic Shock Shapes B Cell Response toward an Exhausted-like/Immunoregulatory Profile in Patients. J Immunol. 2018;200(7):2418-25.

100. Drewry AM, Samra N, Skrupky LP, Fuller BM, Compton SM, Hotchkiss RS. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality. Shock. 2014;42(5):383-91.

101. Venet F, Rimmele T, Monneret G. Management of Sepsis-Induced Immunosuppression. Crit Care Clin. 2018;34(1):97-106.

102. Huang LF, Yao YM, Dong N, Yu Y, He LX, Sheng ZY. Association between regulatory T cell activity and sepsis and outcome of severely burned patients: a prospective, observational study. Crit Care. 2010;14(1):R3.

103. Ost M, Singh A, Peschel A, Mehling R, Rieber N, Hartl D. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Bacterial Infections. Front Cell Infect Microbiol. 2016;6:37.

104. Mathias B, Delmas AL, Ozrazgat-Baslanti T, Vanzant EL, Szpila BE, Mohr AM, et al. Human Myeloid-derived Suppressor Cells are Associated With Chronic Immune Suppression After Severe Sepsis/Septic Shock. Ann Surg. 2017;265(4):827-34.

105. Wakeley ME, Gray CC, Monaghan SF, Heffernan DS, Ayala A. Check Point Inhibitors and Their Role in Immunosuppression in Sepsis. Crit Care Clin. 2020;36(1):69-88.

106. Chang KC, Burnham CA, Compton SM, Rasche DP, Mazuski RJ, McDonough JS, et al. Blockade of the negative co-stimulatory molecules PD-1 and CTLA-4 improves survival in primary and secondary fungal sepsis. Crit Care. 2013;17(3):R85.

107. Patera AC, Drewry AM, Chang K, Beiter ER, Osborne D, Hotchkiss RS. Frontline Science: Defects in immune function in patients with sepsis are associated with PD-1 or PD-L1 expression and can be restored by antibodies targeting PD-1 or PD-L1. J Leukoc Biol. 2016;100(6):1239-54.

108. Watanabe E, Nishida O, Kakihana Y, Odani M, Okamura T, Harada T, et al. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Safety of Nivolumab in Patients With Sepsis-Induced Immunosuppression: A Multicenter, Open-Label Phase 1/2 Study. Shock. 2020;53(6):686-94.

109. Hynninen M, Pettila V, Takkunen O, Orko R, Jansson SE, Kuusela P, et al. Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis. Shock. 2003;20(1):1-4.

110. Leijte GP, Rimmele T, Kox M, Bruse N, Monard C, Gossez M, et al. Monocytic HLA-DR expression kinetics in septic shock patients with different pathogens, sites of infection and adverse outcomes. Crit Care. 2020;24(1):110.

111. Adib-Conquy M, Adrie C, Fitting C, Gattolliat O, Beyaert R, Cavaillon JM. Up-regulation of MyD88s and SIGIRR, molecules inhibiting Toll-like receptor signaling, in monocytes from septic patients. Crit Care Med. 2006;34(9):2377-85.

112. de Vos AF, Pater JM, van den Pangaart PS, de Kruif MD, van 't Veer C, van der Poll T. In vivo lipopolysaccharide exposure of human blood leukocytes induces cross-tolerance to multiple TLR ligands. J Immunol. 2009;183(1):533-42.

113. Austermann J, Friesenhagen J, Fassl SK, Petersen B, Ortkras T, Burgmann J, et al. Alarmins MRP8 and MRP14 induce stress tolerance in phagocytes under sterile inflammatory conditions. Cell Rep. 2014;9(6):2112-23.

114. Foster SL, Hargreaves DC, Medzhitov R. Gene-specific control of inflammation by TLR-induced chromatin modifications. Nature. 2007;447(7147):972-8.

115. Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, Linde-Zwirble WT, Marshall JC, Bion J, et al. The Surviving Sepsis Campaign: results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. Crit Care Med. 2010;38(2):367-74.

116. Levy MM, Rhodes A, Phillips GS, Townsend SR, Schorr CA, Beale R, et al. Surviving Sepsis Campaign: association between performance metrics and outcomes in a 7.5-year study. Intensive Care Med. 2014;40(11):1623-33.

117. Coopersmith CM, De Backer D, Deutschman CS, Ferrer R, Lat I, Machado FR, et al. Surviving sepsis campaign: research priorities for sepsis and septic shock. Intensive Care Med. 2018;44(9):1400-26.

118. Lat I, Coopersmith CM, De Backer D, Coopersmith CM, Research Committee of the Surviving Sepsis C. The surviving sepsis campaign: fluid resuscitation and vasopressor therapy research priorities in adult patients. Intensive Care Med Exp. 2021;9(1):10.

119. Nunnally ME, Ferrer R, Martin GS, Martin-Loeches I, Machado FR, De Backer D, et al. The Surviving Sepsis Campaign: research priorities for the administration, epidemiology, scoring and identification of sepsis. Intensive Care Med Exp. 2021;9(1):34.

120. Deutschman CS, Hellman J, Roca RF, De Backer D, Coopersmith CM, Research Committee of the Surviving Sepsis C. The surviving sepsis campaign: basic/translational science research priorities. Intensive Care Med Exp. 2020;8(1):31.

121. Martin-Loeches I, Nunnally ME, Hellman J, Lat I, Martin GS, Jog S, et al. Surviving Sepsis Campaign: Research Opportunities for Infection and Blood Purification Therapies. Crit Care Explor. 2021;3(9):e0511.

122. Coopersmith CM, Antonelli M, Bauer SR, Deutschman CS, Evans LE, Ferrer R, et al. The Surviving Sepsis Campaign: Research Priorities for Coronavirus Disease 2019 in Critical Illness. Crit Care Med. 2021;49(4):598-622.

123. Shankar-Hari M, Rubenfeld GD. Population enrichment for critical care trials: phenotypes and differential outcomes. Curr Opin Crit Care. 2019;25(5):489-97.

124. Reddy K, Sinha P, O'Kane CM, Gordon AC, Calfee CS, McAuley DF. Subphenotypes in critical care: translation into clinical practice. Lancet Respir Med. 2020;8(6):631-43.

125. Stanski NL, Wong HR. Prognostic and predictive enrichment in sepsis. Nat Rev Nephrol. 2020;16(1):20-31.

126. Langley RJ, Tsalik EL, van Velkinburgh JC, Glickman SW, Rice BJ, Wang C, et al. An integrated clinico-metabolomic model improves prediction of death in sepsis. Sci Transl Med. 2013;5(195):195ra95.

127. Wang L, Ko ER, Gilchrist JJ, Pittman KJ, Rautanen A, Pirinen M, et al. Human genetic and metabolite variation reveals that methylthioadenosine is a prognostic biomarker and an inflammatory regulator in sepsis. Sci Adv. 2017;3(3):e1602096.

128. DeMerle KM, Angus DC, Baillie JK, Brant E, Calfee CS, Carcillo J, et al. Sepsis Subclasses: A Framework for Development and Interpretation. Crit Care Med. 2021;49(5):748-59.

129. Almansa R, Heredia-Rodriguez M, Gomez-Sanchez E, Andaluz-Ojeda D, Iglesias V, Rico L, et al. Transcriptomic correlates of organ failure extent in sepsis. J Infect. 2015;70(5):445-56.

130. Baghela A, Pena OM, Lee AH, Baquir B, Falsafi R, An A, et al. Predicting sepsis severity at first clinical presentation: The role of endotypes and mechanistic signatures. EBioMedicine. 2022;75:103776.

131. Davenport EE, Burnham KL, Radhakrishnan J, Humburg P, Hutton P, Mills TC, et al. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study. Lancet Respir Med. 2016;4(4):259-71.

132. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature. 2001;409(6822):860-921.

133. Nurk S, Koren S, Rhie A, Rautiainen M, Bzikadze AV, Mikheenko A, et al. The complete sequence of a human genome. Science. 2022;376(6588):44-53.

134. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. N Engl J Med. 1988;318(12):727-32.

135. Claussnitzer M, Cho JH, Collins R, Cox NJ, Dermitzakis ET, Hurles ME, et al. A brief history of human disease genetics. Nature. 2020;577(7789):179-89.

136. Maurano MT, Humbert R, Rynes E, Thurman RE, Haugen E, Wang H, et al. Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. Science. 2012;337(6099):1190-5.

137. Engoren M, Jewell ES, Douville N, Moser S, Maile MD, Bauer ME. Genetic variants associated with sepsis. PLoS One. 2022;17(3):e0265052.

138. Arcaroli J, Fessler MB, Abraham E. Genetic polymorphisms and sepsis. Shock. 2005;24(4):300-12.

139. Gazal S, Weissbrod O, Hormozdiari F, Dey KK, Nasser J, Jagadeesh KA, et al. Combining SNP-to-gene linking strategies to identify disease genes and assess disease omnigenicity. Nat Genet. 2022;54(6):827-36.

140. Ma C, Gu L, Yang M, Zhang Z, Zeng S, Song R, et al. rs1495741 as a tag single nucleotide polymorphism of N-acetyltransferase 2 acetylator phenotype associates bladder cancer risk and interacts with smoking: A systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2016;95(31):e4417.

141. Bronkhorst MW, Patka P, Van Lieshout EM. Effects of Sequence Variations in Innate Immune Response Genes on Infectious Outcome in Trauma Patients: A Comprehensive Review. Shock. 2015;44(5):390-6.

142. Sutherland AM, Walley KR. Bench-to-bedside review: Association of genetic variation with sepsis. Crit Care. 2009;13(2):210.

143. Jimenez-Sousa MA, Fadrique A, Liu P, Fernandez-Rodriguez A, Lorenzo-Lopez M, Gomez-Sanchez E, et al. TNFAIP3, TNIP1, and MyD88 Polymorphisms Predict Septic-Shock-Related Death in Patients Who Underwent Major Surgery. J Clin Med. 2019;8(3):283.

144. Jimenez-Sousa MA, Liu P, Medrano LM, Fernandez-Rodriguez A, Almansa R, Gomez-Sanchez E, et al. Association of CD14 rs2569190 polymorphism with mortality in shock septic patients who underwent major cardiac or abdominal surgery: A retrospective study. Sci Rep. 2018;8(1):2698.

145. Jimenez-Sousa MA, Medrano LM, Liu P, Almansa R, Fernandez-Rodriguez A, Gomez-Sanchez E, et al. IL-1B rs16944 polymorphism is related to septic shock and death. Eur J Clin Invest. 2017;47(1):53-62.

146. Jimenez-Sousa MA, Medrano LM, Liu P, Fernandez-Rodriguez A, Almansa R, Gomez-Sanchez E, et al. IL-6 rs1800795 polymorphism is associated with septic shock-related death in patients who underwent major surgery: a preliminary retrospective study. Ann Intensive Care. 2017;7(1):22.

147. Guo L, Du Y, Chang S, Zhang K, Wang J. rSNPBase: a database for curated regulatory SNPs. Nucleic Acids Res. 2014;42(Database issue):D1033-9.

148. Syedbasha M, Egli A. Interferon Lambda: Modulating Immunity in Infectious Diseases. Front Immunol. 2017;8:119.

149. Cohen TS, Parker D. Microbial pathogenesis and type III interferons. Cytokine Growth Factor Rev. 2016;29:45-51.

150. Luo Q, Liu Y, Liu S, Yin Y, Xu B, Cao J. Interleukin 28 is a potential therapeutic target for sepsis. Clin Immunol. 2019;205:29-34.

151. Jimenez-Sousa MA, Fernandez-Rodriguez A, Guzman-Fulgencio M, Garcia-Alvarez M, Resino S. Meta-analysis: implications of interleukin-28B polymorphisms in spontaneous and treatment-related clearance for patients with hepatitis C. BMC Med. 2013;11:6.

152. Bhushan A, Chinnaswamy S. Identifying causal variants at the interferon lambda locus in case-control studies: Utilizing non-synonymous variant rs117648444 to probe the role of IFN-lambda4. Gene. 2018;664:168-80.

153. Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. Blood. 2019;133(20):2178-85.

154. Beyrau M, Bodkin JV, Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity. Open Biol. 2012;2(11):120134.

155. Chin KL, Aerbajinai W, Zhu J, Drew L, Chen L, Liu W, et al. The regulation of OLFM4 expression in myeloid precursor cells relies on NF-kappaB transcription factor. Br J Haematol. 2008;143(3):421-32.

156. Martinez-Paz P, Aragon-Camino M, Gomez-Sanchez E, Lorenzo-Lopez M, Gomez-Pesquera E, Lopez-Herrero R, et al. Gene Expression Patterns Distinguish Mortality Risk in Patients with Postsurgical Shock. J Clin Med. 2020;9(5):1276.

157. Alder MN, Opoka AM, Lahni P, Hildeman DA, Wong HR. Olfactomedin-4 Is a Candidate Marker for a Pathogenic Neutrophil Subset in Septic Shock. Crit Care Med. 2017;45(4):e426-e32.

158. Tchoupa AK, Schuhmacher T, Hauck CR. Signaling by epithelial members of the CEACAM family - mucosal docking sites for pathogenic bacteria. Cell Commun Signal. 2014;12:27.

159. Schmitter T, Agerer F, Peterson L, Munzner P, Hauck CR. Granulocyte CEACAM3 is a phagocytic receptor of the innate immune system that mediates recognition and elimination of human-specific pathogens. J Exp Med. 2004;199(1):35-46.

160. Delgado Tascon J, Adrian J, Kopp K, Scholz P, Tschan MP, Kuespert K, et al. The granulocyte orphan receptor CEACAM4 is able to trigger phagocytosis of bacteria. J Leukoc Biol. 2015;97(3):521-31.

161. Kc R, Shukla SD, Walters EH, O'Toole RF. Temporal upregulation of host surface receptors provides a window of opportunity for bacterial adhesion and disease. Microbiology (Reading). 2017;163(4):421-30.

162. Nunnari G, Sanfilippo C, Castrogiovanni P, Imbesi R, Li Volti G, Barbagallo I, et al. Network perturbation analysis in human bronchial epithelial cells following SARS-CoV2 infection. Exp Cell Res. 2020;395(2):112204.

163. Ambrosi C, Scribano D, Sarshar M, Zagaglia C, Singer BB, Palamara AT. Acinetobacter baumannii Targets Human Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecules (CEACAMs) for Invasion of Pneumocytes. mSystems. 2020;5(6):e00604-20.

164. Raj D, Nikolaidi M, Garces I, Lorizio D, Castro NM, Caiafa SG, et al. CEACAM7 Is an Effective Target for CAR T-cell Therapy of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Clin Cancer Res. 2021;27(5):1538-52.

165. Dinarello CA. Introduction to the interleukin-1 family of cytokines and receptors: Drivers of innate inflammation and acquired immunity. Immunol Rev. 2018;281(1):5-7.

166. Boraschi D, Italiani P, Weil S, Martin MU. The family of the interleukin-1 receptors. Immunol Rev. 2018;281(1):197-232.

167. Schluter T, Schelmbauer C, Karram K, Mufazalov IA. Regulation of IL-1 signaling by the decoy receptor IL-1R2. J Mol Med (Berl). 2018;96(10):983-92.

168. Shankar-Hari M, Harrison DA, Rowan KM. Differences in Impact of Definitional Elements on Mortality Precludes International Comparisons of Sepsis Epidemiology-A Cohort Study Illustrating the Need for Standardized Reporting. Crit Care Med. 2016;44(12):2223-30.

169. GBD 2017 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet. 2018;392(10159):1736-88.

170. Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. N Engl J Med. 2015;372(9):793-5.

171. Tsimberidou AM. Initiative for Molecular Profiling and Advanced Cancer Therapy and challenges in the implementation of precision medicine. Curr Probl Cancer. 2017;41(3):176-81.

172. Perez-Garcia F, Jimenez-Sousa MA, Soria S, Jorge-Monjas P, Fernandez-Rodriguez A, Gomez-Sanchez E, et al. IFNL3 rs12980275 Polymorphism Predicts Septic Shock-Related Death in Patients Undergoing Major Surgery: A Retrospective Study. Front Med (Lausanne). 2020;7:186.

173. Perez-Garcia F, Resino S, Gomez-Sanchez E, Gonzalo-Benito H, Fernandez-Rodriguez A, Lorenzo-Lopez M, et al. OLFM4 polymorphisms predict septic shock survival after major surgery. Eur J Clin Invest. 2021;51(4):e13416.

174. Liu W, Yan M, Liu Y, McLeish KR, Coleman WG, Jr., Rodgers GP. Olfactomedin 4 inhibits cathepsin C-mediated protease activities, thereby modulating neutrophil killing of Staphylococcus aureus and Escherichia coli in mice. J Immunol. 2012;189(5):2460-7.

175. Liu W, Yan M, Sugui JA, Li H, Xu C, Joo J, et al. Olfm4 deletion enhances defense against Staphylococcus aureus in chronic granulomatous disease. J Clin Invest. 2013;123(9):3751-5.

176. Schlam D, Bagshaw RD, Freeman SA, Collins RF, Pawson T, Fairn GD, et al. Phosphoinositide 3-kinase enables phagocytosis of large particles by terminating actin assembly through Rac/Cdc42 GTPase-activating proteins. Nat Commun. 2015;6:8623.

177. Georg M, Maudsdotter L, Tavares R, Jonsson AB. Meningococcal resistance to antimicrobial peptides is mediated by bacterial adhesion and host cell RhoA and Cdc42 signalling. Cell Microbiol. 2013;15(11):1938-54.

178. Yang YX, Li L. Identification of potential biomarkers of sepsis using bioinformatics analysis. Exp Ther Med. 2017;13(5):1689-96.

179. Perez-Garcia F, Jimenez-Sousa MA, Gomez-Sanchez E, Gonzalo-Benito H, Fernandez-Rodriguez A, Lorenzo-Lopez M, et al. CEACAM7 polymorphisms predict genetic predisposition to mortality in post-surgical septic shock patients. J Microbiol Immunol Infect. 2022;55(3):540-4.

180. McHugh L, Seldon TA, Brandon RA, Kirk JT, Rapisarda A, Sutherland AJ, et al. A Molecular Host Response Assay to Discriminate Between Sepsis and Infection-Negative Systemic Inflammation in Critically Ill Patients: Discovery and Validation in Independent Cohorts. PLoS Med. 2015;12(12):e1001916.

181. Deelen P, van Dam S, Herkert JC, Karjalainen JM, Brugge H, Abbott KM, et al. Improving the diagnostic yield of exome- sequencing by predicting gene-phenotype associations using large-scale gene expression analysis. Nat Commun. 2019;10(1):2837.

182. Ahmad S, Singh P, Sharma A, Arora S, Shriwash N, Rahmani AH, et al. Transcriptome Meta-Analysis Deciphers a Dysregulation in Immune Response-Associated Gene Signatures during Sepsis. Genes (Basel). 2019;10(12).

183. Muller B, Peri G, Doni A, Perruchoud AP, Landmann R, Pasqualini F, et al. High circulating levels of the IL-1 type II decoy receptor in critically ill patients with sepsis: association of high decoy receptor levels with glucocorticoid administration. J Leukoc Biol. 2002;72(4):643-9.

184. Yimthin T, Cliff JM, Phunpang R, Ekchariyawat P, Kaewarpai T, Lee JS, et al. Blood transcriptomics to characterize key biological pathways and identify biomarkers for predicting mortality in melioidosis. Emerg Microbes Infect. 2021;10(1):8-18.

185. Perez-Garcia F, Jimenez-Sousa MA, Gomez-Sanchez E, Lopez-Herrero R, Fernandez-Rodriguez A, Lorenzo-Lopez M, et al. IL-1R1 rs6755229 polymorphism is related to death in patients undergoing major surgery who develop septic shock: a retrospective study. Infect Dis (Lond). 2022;54(3):224-7.

186. Rannikko J, Syrjanen J, Seiskari T, Aittoniemi J, Huttunen R. Sepsis-related mortality in 497 cases with blood culture-positive sepsis in an emergency department. Int J Infect Dis. 2017;58:52-7.

187. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. Crit Care Clin. 2009;25(1):83-101, viii.

188. Cavaillon JM, Singer M, Skirecki T. Sepsis therapies: learning from 30 years of failure of translational research to propose new leads. EMBO Mol Med. 2020;12(4):e10128.

X. RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Definiciones de sepsis

Tabla 2. Escala *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA)

Tabla 3. Recomendaciones incluidas en el *Hour-1 bundle*

Figura 1. Identificación de los pacientes con sepsis y shock séptico

Figura 2. Respuesta inmunitaria inicial frente a las infecciones

Figura 3. Resumen de los mecanismos fisiopatológicos de la sepsis

Figura 4. Esquema de enriquecimiento en los pacientes con sepsis