

RELACIÓN ENTRE LOS INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y BIOMARCADORES EN SEPSIS NEONATAL

Joris R. Delanghe ^a, Marijn M. Speeckaert ^b

Resumen y comentarios: Susana Der Parsehian^c

Artículo original: Delanghe JR, Speeckaert MM. Translational research and biomarkers in neonatal sepsis. Clinica Chimica Acta 2015 (451A), 46-64.

Introducción

La sepsis es la mayor causa de morbilidad y mortalidad en neonatos especialmente en los pre términos con comorbilidades, hospitalización prolongada y en aquellos de muy bajo peso al nacer. Esta condición clínica se la clasifica como sepsis neonatal precoz (ocurre en el 1,5-2% en recién nacidos de muy bajo peso) (RNMBP), cuando los síntomas aparecen en menos de 72 horas de vida y la sepsis tardía con síntomas de infección que aparecen después de las 72 horas de vida (con una prevalencia de hasta el 21% en RNMBP)^{1,2,3}. El diagnóstico certero de sepsis en este grupo poblacional es un desafío científico.

^a Department of Clinical Chemistry, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium ^b Department of Nephrology, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium

^cDepartamento de Bioquímica. Hospital Materno Infantil "Ramón Sardá".
Contacto: parsegh@gmail.com

Durante décadas los hemocultivos fueron considerados como el gold standard. para el diagnóstico de sepsis en recién nacidos, su sensibilidad es sub óptima ya que hay una variación del 11% al 78% que puede deberse al bajo volumen de sangre que se obtiene para los cultivos, las dificultades en la toma de muestra, utilización previa de antibióticos. Es sabido que no existe un único marcador que ofrezca una significativa ventaja por sobre los demás para el diagnóstico de sepsis neonatal. En este trabajo se hace una revisión exhaustiva de biomarcadores de sepsis neonatal desde los más conocidos hasta los más nuevos.

1.-Reactantes de fase aguda. Incluyen a la Proteína C Reactiva, (PCR); Amiloide A sérico, Procalcitonina (PCT), Lipopolisacárido unido a proteína, Lectina de unión a manosa y la hepcidina que ofrecen en general una exactitud diagnóstica moderada en sepsis neonatal;

2.- Citoquinas y Quimiocinas Tales como las interleuquinas (IL6, IL8, IL10), RANTES, Factor de necrosis alfa, moléculas de adhesión celular, CD64, CD11b/CD18, CD14 soluble o presepsina, sTREM-1, E selectina ó CD 62 y L selectina o CD62L; ICAM-1, VCAM-1 y el Activador –receptor del plasminogeno tipo urokinasa soluble;

3.y 4.-Biomarcadores resultantes de estudios proteómicos y metabolómicos

5.- Otros biomarcadores como apo A lipoproteína, la calprotectina, proadrenomedulina, inhibidor de proteínas inter alfa

Debido a la diversidad de los biomarcadores se resumen las principales propiedades de los más utilizados o recientes.

1.1-Proteína C reactiva (PCR): Presente en las paredes celulares bacterianas membranas biológicas y lipopolisacáridos , la fosfocolina es el mayor ligando de la PCR. Después de la infección bacteriana la Interleuquina 6 (IL6) y otras citoquinas pro inflamatorias estimulan la síntesis hepática, con un pico a las 48 hs de la PCR seguida de la activación del sistema complemento, fagocitosis aumentada, activación de macrófagos y monocitos y una elevada producción de citoquinas pro inflamatorias. El empleo de esta proteína de fase aguda en los primeros días de vida del recién nacido es obstaculizado por un aumento inespecífico y fisiológico durante 3 días que es debido al stress del parto y otros factores perinatales no infecciosos. La PCR tiene una muy baja sensibilidad para la detección de sepsis neonatal precoz en etapas

tempranas de la misma debido a una demorada inducción de su síntesis hepática. Sin embargo, la combinación de esta con otros biomarcadores del tipo de la IL6 o la procalcitonina (PCT) aumentarían su sensibilidad

1.2-Amiloide sérico A (SAA): De síntesis hepática regulado por citoquinas. Se realizó un meta-análisis para evaluar la exactitud de la prueba de amiloide sérico A (SAA) para el diagnóstico de enterocolitis necrotizante (NS). Se llevó a cabo un meta análisis entre enero de 1996 y junio de 2013. En éste se incluyeron nueve estudios con un total de 823 neonatos.⁴ La prueba de SAA demostró una precisión moderada en el diagnóstico de NS tanto en la primera sospecha de sepsis y 8-96 h después de la aparición de sepsis similar a las pruebas de PCT y PCR para el diagnóstico de NS en el mismo período. La heterogeneidad de los resultados se explicó por el punto de corte, por el método empleado para la determinación de SAA, y por la edad de los neonatos incluidos. Sobre la base de este meta-análisis, la SAA podría ser prometedora y significativa en el diagnóstico de NS.

1.3- Procalcitonina (PCT): A pesar de ser un biomarcador muy estudiado los autores destacan la gran heterogeneidad estadística de los análisis efectuados en los distintos estudios analizados. En sepsis neonatal algunos trabajos muestran a la PCT con una sensibilidad 81% (IC: 74-87%), una especificidad del 79%(IC 69.87%) y una ROC de 0.78. Destacan a su vez que la medición serial de PCT al momento de nacer y a las 24 horas post nacimiento aumenta la eficacia diagnóstica para sepsis precoz (SP). Sin embargo, episodios no infecciosos tales como síndrome de distress respiratorio, asfixia perinatal, hemorragia intracraneana, falla hemodinámica, neumotórax, distress fetal se asocian con elevados niveles séricos de PCT

1.4- Lipolisacarido unido a proteína (LBP): Según los autores, en una cohorte de neonatos críticamente enfermos y en niños la medida de esta proteína de fase aguda durante el primer día de una sospecha de sepsis es de mayor valor que la determinación de PCR, Interleukina 6, PCT y CD14 soluble o presepsina, aunque no es un biomarcador adecuado para diferenciar infecciones de SIRS- Respuesta inflamatoria sistémica no infecciosa. Los valores de corte reportados dependen del tipo de microorganismo que lo provoca, la proporción de hemocultivos positivos y la severidad de la enfermedad en la población en estudio tampoco se reportaron diferencias significativas entre sepsis a Gram positivo y Gram negativo.

1.5 Lectina de unión a manosa (MBL): En los recién nacidos aporta protección no específica contra microorganismos durante la ventana de vulnerabilidad después del descenso de los anticuerpos maternos. La concentración plasmática de MBL varía con la edad: Es menor al nacer, alcanza un máximo en las primeras semanas de vida y disminuye hasta alcanzar los valores del adulto. La concentración plasmática es extremadamente variable: 0,1 µg/ml a 5µg/ml con una media de 1,7 µg/ml (determinada por polimorfismos en el exón 1 y en la región promotora) La deficiencia de MBL se asocia con una susceptibilidad aumentada a infecciones: otitis media, neumonía, meningitis, osteomielitis, sepsis. La influencia del genotipo MBL2 para riesgo de infección en neonatos es todavía un asunto de debate

2.-Quimiocinas y Citoquinas. Algunas están consideradas como pro-inflamatorias, y, durante una respuesta inmunitaria pueden ser inducidas para promover células del sistema inmunitario a un lugar de infección, mientras que otras como homeostáticas y están involucradas en el control de la migración de las células durante los procesos normales de mantenimiento o desarrollo de tejidos. Existe una estrecha relación entre las citocinas (activadores endógenos de la respuesta inmune) y las quimiocinas que son mediadores secundarios. Ellas contienen dos puentes disulfuro en su estructura y su función es lo que se utiliza para clasificarla en familias. La familia CC que posee dos residuos de cisteína juntos localizados en el extremo amino terminal que se producen en la célula T activada y actúan principalmente sobre células mononucleares. Las más conocidas son la quimiocina RANTES (CCL5) y la proteína quimio táctica del monocito-1 (MCP-1, también llamada CCL-2).

2.1-Dentro de las Interleuquinas, la **IL-6** induce la síntesis hepática de las proteínas de fase aguda y regula el crecimiento y desarrollo de células hematopoyéticas y embrionarias. En el suero del recién nacido aparecen concentraciones más altas de lo habitual, pero se normalizan a los pocos días y los niveles de la IL-6 en sangre de cordón aparecen aumentados en neonatos que desarrollan una sepsis neonatal precoz, así como en neonatos con hemorragia intracraneal .**2.2-**En sepsis neonatal se observa variación en los niveles de quimoquinas antes que en los reactantes de fase aguda. En niños infectados se han observado altos niveles de interleukina 6 (IL6), IL8, IL10 y factor de necrosis tisular tipo alfa (TNFα) El receptor soluble de IL2 se ha empleado para identificar bacteriemias mientras que bajos niveles plasmáticos de **RANTES** son característicos de las

septicemias. Algunas moléculas de adhesión celular también contribuyen a la patogénesis de la sepsis. **2.3-** En los granulocitos existe una expresión no regulada del **CD 64** dentro de la hora hasta las 6 horas posteriores a la invasión bacteriana, por lo que la medición seriada de CD64 podría permitir monitorear la terapia antibiótica. **2.4-** En el caso del complejo **CD11b/CD18su** empleo para diagnosticar la sepsis neonatal es controversial debido a las distintas técnicas de medición existentes y a distintos tipos de población donde fue evaluado, aunque se ha encontrado una correlación positiva entre los niveles de CD 11 b y la severidad de la inflamación sistémica. **2.5-** Respecto del **sCD14-St o presepsina** puede ser considerada un biomarcador específico y temprano de sepsis de origen bacteriano. Es el fragmento N-terminal de 13KDa de la proteína CD14. Que es una glicoproteína de la superficie celular, que existe anclada a la membrana, o en forma soluble (sCD14). Se expresa en la superficie de diversas células, incluyendo monocitos, macrófagos, neutrófilos, células B, células dendríticas, y actúa como receptor de los lipopolisacáridos bacterianos (LPS-LBP). El complejo LPS-CD14 (-LBP) es liberado a la circulación donde la actividad de la proteasa plasmática da origen al subtipo soluble CD14. Cabe mencionar que niveles elevados de sTREM-1-Receptor disparador expresado en células mieloides activa los neutrófilos, los monocitos y los macrófagos a través de la proteína DAP 12, amplifica la actividad de los TRLs50 en sepsis neonatal precoz y está asociado con una alta mortalidad. El empleo combinado de IL6 y de sTREM-1 no mostro mejores resultados en el diagnóstico de sepsis neonatal tardía en comparación con la determinación de la IL 6 sola

3.- Biomarcadores proteómicos tienen un futuro promisorio para el diagnóstico de sepsis neonatal. Desde hace unos pocos años la proteómica permite el análisis simultáneo de cientos de proteínas, así como el análisis de sus modificaciones estructurales empleando la espectrometría de masas con ionización por desorción con láser inducida en superficie y con analizador de tiempo de vuelo (SELDI-TOF, acrónimo del inglés surface-enhanced laser desorption ionization time-of-flight). El análisis proteómico del líquido amniótico de mujeres embarazadas, con parto prematuro o rotura temprana de membranas y con una amniocentesis que descarta cualquier infección intraamniótica, ha resultado ser eficaz para identificar sepsis neonatal precoz. Basado en la presencia o ausencia de 4 biomarcadores: neutrófilo defensina1, neutrófilo defensina 2, S100A12 y el S100A8 se ha validado un score de "Masa restringida "(mass restricted) como diagnóstico de infección y/o inflamación

intraamniótica. El S100A8 en el líquido amniótico es un potente predictor de incidencia aumentada de sepsis precoz en neonatos. El análisis proteómico en sangre de cordón ha revelado patrones de expresión proteica alterada. El score ApoSAA ha sido validado y combina amiloide sérico A (SAA) y la apolipoproteína C 2 para identificar sepsis neonatal y NS con un cut off de 0,199 así como permite el monitoreo de la antibiótico terapia

4.- Biomarcadores metabolómicos El empleo de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y espectrometría de masa permite diferenciar shock séptico el cual está asociado con concentraciones elevadas de 2 hidroxí butirato, 2 OH isovalerato, 2 metil glutarato, creatinina, glucosa y lactato. Mientras que niveles disminuidos en suero de 2NH₂ butirato, acetato, adipato y treonina se ha observado en sepsis neonatal. Si bien se han obtenido buenos resultados en los valores urinarios de metabolomas para identificar sepsis en neonatos se recomienda efectuar más estudios del tipo de cohorte prospectivo

Conclusión

En la práctica diaria el tiempo de respuesta de los estudios microbiológicos, en general, limita la posibilidad de establecer un diagnóstico etiológico temprano y la mayoría de los grupos de trabajo utilizan 2-3 marcadores de infección (reactantes de fase aguda) junto con los signos y síntomas del paciente para iniciar un tratamiento antimicrobiano empírico. Sin embargo, aún combinando estos marcadores entre sí. Su sensibilidad y especificidad no es del todo aceptable por lo que la búsqueda de un marcador de infección con alta sensibilidad y especificidad, de fácil realización y tiempo de respuesta rápido es el objetivo de numerosos investigadores, intentando con ello mejorar la evolución del paciente, disminuir la estancia en el hospital y la posible terapia antibiótica innecesaria. El empleo combinado de estudios proteómicos, metabolómicos, transcriptómicos y genómicos tiene un futuro promisorio en el diagnóstico y revelación de los mecanismos patogénicos tanto de la sepsis neonatal como el de la NS

Referencias bibliográficas

- [1] Stoll BJ, Hansen NI, Sánchez PJ, et al. Early onset neonatal sepsis: the burden of group B Streptococcal and E. coli disease continues. *Pediatrics* 2011;127:817–26.
- [2] Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* 2002;110:285–91.
- [3] Connell TG, Rele M, Cowley D, et al. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for culture in routine practice in a children's hospital. *Pediatrics* 2009;119:891–6.
- [4] Yuan H, Huang J, Lv B, et al. Diagnosis value of the serum amyloid A test in neonatal sepsis: a meta-analysis. *Biomed Res Int* 2013;2013:520294

Comentarios:

La investigación traslacional surge de la necesidad de estrechar lazos entre la investigación básica y la clínica. Incluye el proceso de transferencia de conocimientos y tecnología (diagnóstica o terapéutica) desde el laboratorio hasta la cabecera del enfermo y viceversa. El proceso del traslado de los conocimientos de las ciencias básicas a la búsqueda de las intervenciones terapéuticas o preventivas eficaces, exige una incesante interacción, un intercambio de recursos y conocimientos, cuya finalidad es conseguir que los descubrimientos de las ciencias básicas redunden en beneficio de los pacientes. El objetivo es aplicar con eficiencia el conocimiento de los procesos celulares, moleculares, fisiológicos, químicos o genéticos a la búsqueda de tratamientos eficaces o de técnicas de prevención o diagnóstico, con un enfoque que en inglés se resume en la expresión from bench to bed-side (del laboratorio a la cabecera del enfermo).