



**DEFICIENCIA DE 25-HIDROXIVITAMINA D,
VDBP Y PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS
VITAMINA D DEPENDIENTES
EN EL PACIENTE SÉPTICO**

AUTOR: SONIA PÉREZ SAN MARTÍN

TUTOR: BERNARDO ALIO LAVÍN GÓMEZ

**MÁSTER “CONDICIONANTES GENÉTICOS, NUTRICIONALES Y
AMBIENTALES DEL CRECIMIENTO Y EL DESARROLLO”**

Deficiencia de 25-hidroxivitamina D, VDBP y péptidos antimicrobianos vitamina D dependientes en el paciente séptico.

Autor: Sonia Pérez San Martín, DNI 10903698L

Tutor académico: Bernardo Alio Lavín Gómez, DNI 72033969Q

Línea de investigación: Desarrollo del Sistema Inmune, Inmunonutrición, Inmunogenética e Inmunoambiente.

Centro: Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (Santander)

RESUMEN

Introducción: La vitamina D desempeña un papel importante en la regulación de la inflamación y protección frente a las infecciones, induciendo la síntesis de péptidos antimicrobianos. La deficiencia de vitamina D se ha asociado con un incremento de mortalidad en pacientes sépticos adultos. La proteína transportadora de vitamina D (VDBP) también tiene funciones antiinflamatorias y autoinmunes.

Objetivo: Evaluar los niveles de 25-hidroxivitamina D (25(OH) D), 1,25-dihidroxi vitamina D (1,25(OH)₂ D), VDBP, catelicidina y β -2-defensina en pacientes adultos con sepsis/shock séptico y relacionarlos con parámetros inflamatorios (leucocitos, proteína C reactiva y procalcitonina) y pronóstico/mortalidad.

Material y Métodos: Estudio prospectivo observacional realizado en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). Los niveles séricos de 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β -2-defensina fueron medidos al ingreso en UCI.

Resultados: De un total de 75 pacientes consecutivos sépticos, 62 (82,8%) tenían niveles deficientes de vitamina D (<20 ng/mL). Los niveles de 25(OH) D eran significativamente menores en primavera comparados con los obtenidos en otoño ($p < 0.001$). En el estudio de correlación con parámetros inflamatorios, sólo se correlaciona la VDBP con los leucocitos ($r = 0,260$, $p = 0.026$). Se observan diferencias estadísticamente significativas entre supervivientes y no supervivientes en los niveles de VDBP (OR 8,74, IC 95%=1,18-65,01, $p = 0,034$).

Conclusiones: La prevalencia de deficiencia de vitamina D es elevada y el estatus de vitamina D exhibe una fuerte variación estacional en pacientes sépticos. La VDBP es la única variable que se asocia de manera significativa con el riesgo de mortalidad, así niveles altos de VDBP parecen ser protectores.

Palabras clave: sepsis, vitamina D, VDBP, catelicidina, β -2-defensina, mortalidad

ABSTRACT

Introduction: Vitamin D has a potential role in the regulation of inflammation and protection from infection, inducing the synthesis of antimicrobial peptides. Vitamin D deficiency was associated with increased mortality rates in septic adult patients. Vitamin D binding protein (VDBP) has also anti-inflammatory and immunomodulatory functions.

Purpose: The aim of this study was to evaluate 25-hydroxyvitamin D (25(OH) D), 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂ D), VDBP, cathelicidin and β -2-defensin serum levels in septic shock adults patients and their association with inflammation parameters and outcome.

Methods: Single-centre prospective observational study conducted in an intensive care department (ICU). 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, VDBP, cathelicidin y β -2-defensin serum levels were collected on the day of ICU admission.

Results: Among the 75 patients consecutive septic patients studied, 62 (82,8%) had vitamin D deficiency. 25(OH) D levels were significantly lower in spring compared to autumn ($p < 0.001$). In the correlation with inflammation parameters (leukocyte count, C reactive protein and procalcitonin), only VDBP was correlated with leukocyte count ($r = 0,260$, $p = 0.026$). Significant differences were observed between hospital survivors and non survivors with respect to VDBP levels (OR 8,74, IC 95%=1,18-65,01, $p = 0,034$).

Conclusions: In septic patients, low vitamin D levels are highly prevalent and vitamin D status exhibits a strong seasonal variation. VDBP was the only variable that was statistically associated with a higher risk of mortality, thus elevated VDBP levels appear to act as a protective factor.

Key words: sepsis, vitamin D, VDBP, cathelicidin, β -2-defensin, mortality

D. BERNARDO ALIO LAVÍN GÓMEZ, DOCTOR EN MEDICINA Y FACULTATIVO ESPECIALISTA DE ÁREA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA DE SANTANDER,

CERTIFICA que el presente TRABAJO FIN DE MÁSTER titulado **DEFICIENCIA DE 25-HIDROXIVITAMINA D, VDBP Y PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS VITAMINA D DEPENDIENTES EN EL PACIENTE SÉPTICO**, realizado bajo mi dirección por **Dña. Sonia Pérez San Martín**, responde a las exigencias científicas de originalidad y rigor propias de un trabajo de esta índole y son fruto de la capacidad técnica e interpretativa de la alumna.

Santander, a cinco de octubre de 2017

V. ° B. °:

BERNARDO ALIO LAVÍN GÓMEZ

FIRMADO:

SONIA PÉREZ SAN MARTÍN

INDICE

1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	1
1.1. SEPSIS	1
1.1.1. Definición de sepsis	1
1.1.2. Etiopatogenia	3
1.1.2.1. Epidemiología	3
1.1.2.2. Fisiopatología.....	5
1.1.3. Manifestaciones clínicas	6
1.1.4. Diagnóstico.....	7
1.1.5. Tratamiento	7
1.2. LA VITAMINA D, PROTEINA TRANSPORTADORA DE VITAMINA D Y PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS	8
1.2.1. Fuentes de vitamina D.....	8
1.2.2. Metabolismo de la vitamina D	8
1.2.3. Mecanismo de acción de la vitamina D	9
1.2.4. Efectos biológicos de la vitamina D.....	11
1.2.5. Proteína transportadora de vitamina D (VDBP / Globulina Gc)	13
1.2.6. Estado de la vitamina D.....	15
1.2.6.1. Metodología disponible	15
1.2.6.2. Valores de referencia y objetivos de salud	16
1.2.7. Papel de la vitamina D en el sistema inmune	16
1.2.7.1. Inmunidad innata.....	16
1.2.7.2. Inmunidad adaptativa	17
1.2.8. Péptidos antimicrobianos vitamina D dependientes	19
1.2.8.1. La catelicidina humana (LL-37).....	19
1.2.8.2. La β -2-defensina	21
1.3. PAPEL DE LA VITAMINA D, LA VDBP Y LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS EN LA SEPSIS	21
1.3.1. Vitamina D y sepsis.....	21
1.3.2. Péptidos antimicrobianos, VDBP y sepsis.....	23
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	24
2.1. HIPÓTESIS	24
2.2. OBJETIVO GENERAL.....	25
2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3. METODOLOGÍA.....	25

3.1.	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	25
3.2.	APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE.....	26
3.3.	PACIENTES	26
3.4.	EXTRACCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS Y ANÁLISIS.....	26
3.4.1.	25(OH) D.....	27
3.4.2.	1,25(OH) ₂ D.....	27
3.4.3.	VDBP	28
3.4.4.	Catelicidina	28
3.4.5.	β-2-Defensina.....	28
3.4.6.	Otros parámetros complementarios	28
3.5.	TOMA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS Y ANÁLISIS.....	29
3.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
3.7.	BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA.....	30
4.	RESULTADOS.....	30
4.1.	POBLACIÓN INCLUIDA EN EL ESTUDIO	30
4.2.	PREVALENCIA DE DEFICIENCIA DE VITAMINA D EN PACIENTES CRÍTICOS SÉPTICOS	32
4.3.	INFLUENCIA DE LA ESTACIONALIDAD SOBRE LOS NIVELES SÉRICOS DE 25(OH) D, 1,25 (OH) ₂ D, CATELICIDINA, B-2-DEFENSINA Y VDBP.....	34
4.4.	INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS NIVELES SÉRICOS DE 25(OH) D, 1,25 (OH) ₂ D,CATELICIDINA, B-2-DEFENSINA Y VDBP	36
4.5.	CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE 25(OH) D, 1,25 (OH) ₂ D, CATELICIDINA, B-2-DEFENSINA Y VDBP . CORRELACIONES CON PARÁMETROS DE INFLAMACIÓN.....	36
4.6.	ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS ANALIZADOS EN RELACIÓN CON EL PRONÓSTICO / MORTALIDAD	37
5.	DISCUSIÓN	38
6.	CONCLUSIONES.....	44
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	45
8.	ANEXOS.....	i
8.1.	APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA.....	i
8.2.	CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.....	ii
8.3.	ABREVIATURAS	vi

1. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

1.1. SEPSIS

La sepsis es una de las principales causas de mortalidad en pacientes críticos en todo el mundo. Aunque los avances en el conocimiento de su fisiopatología, en el tratamiento antibiótico, en las medidas para modular la respuesta inmunitaria y la intervención precoz han disminuido su desenlace fatal, su incidencia ha ido en aumento en los últimos años.

La sepsis es un tema importante de salud en la actualidad, no sólo por la mortalidad, sino porque los pacientes que sobreviven a la sepsis con frecuencia sufren problemas físicos, psicológicos y cognitivos prolongados.

1.1.1. Definición de sepsis

La sepsis (del griego *sepo*, que significa «putrefacción») es una respuesta inflamatoria exagerada ante un estímulo infeccioso (1).

En 1991, el *American College of Chest* (AVVP) y la *Society of Critical Care Medicine* (SCCM) convocaron la primera conferencia de consenso, en la que se desarrollaron las definiciones iniciales de sepsis (2), revisadas posteriormente en 2001 (3) y en 2016 (4). Sin embargo, la actual definición de sepsis es controvertida, pues aunque es muy sensible, resulta poco específica e incluye prácticamente cualquier infección, independientemente de su gravedad o repercusión sistémica (1).

En la Tabla 1.1. se resumen las diferentes definiciones utilizadas en las tres conferencias consenso.

CONCEPTO	DEFINICIÓN
Infección	Proceso causado por la invasión por parte de un microorganismo patógeno o potencialmente patógeno de un tejido, cavidad corporal o fluido habitualmente estéril
Bacteriemia	Presencia de bacterias viables en sangre

Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS)	Respuesta inflamatoria sistémica que aparece como consecuencia de diversas agresiones clínicas, y se manifiesta por dos o más de las siguientes situaciones (en ausencia de otras causas conocidas para su alteración): 1) temperatura > 38 o < 36 °C; 2) frecuencia cardíaca > 90 latidos/min; 3) frecuencia respiratoria > 20 rpm o $\text{PaCO}_2 < 32$ mm Hg; 4) leucocitos sanguíneos $> 12 \times 10^9$ /L, o $< 4 \times 10^9$ /L o $> 10\%$ de formas inmaduras (bandas)
Signos de inflamación sistémica en respuesta a la infección	1) Generales: fiebre o hipotermia (temperatura central $> 38,3$ o $< 36^\circ\text{C}$); frecuencia cardíaca > 90 latidos/min; taquipnea; alteración del estado mental; edema significativo o balance positivo (> 20 mL/kg en 24 h); 2) Parámetros inflamatorios: leucocitosis ($> 12 \times 10^9$/L) o leucopenia ($< 4 \times 10^9$/L) ó $> 10\%$ de formas inmaduras leucocitarias; proteína C reactiva o procalcitonina > 2 DE por encima del valor normal; 3) Parámetros hemodinámicos: hipotensión (PAS < 90 mm Hg, o PAM < 70 mm Hg, o descenso PAS > 40 mm Hg o > 2 DE del valor habitual del paciente); $\text{SvO}_2 > 70\%$; IC $> 3,5$ L/min/m²; 4) Parámetros de disfunción orgánica: hipoxemia ($\text{PaO}_2 / \text{FiO}_2 < 300$); oliguria aguda (débito urinario $< 0,5$ mL/kg/h) o incremento de creatinina $> 0,5$ mg/dL; alteración de la coagulación (INR $> 1,5$, TTPa > 60s); íleo parálítico; trombocitopenia (plaquetas $< 100 \times 10^9$/L); hiperbilirrubinemia (bilirrubina total > 4 mg/dL); 5) Parámetros de perfusión tisular: hiperlactacidemia (> 2 mmol/L, ó 18 mg/dL); disminución del relleno capilar, y <i>livedo reticularis</i>.
Sepsis	Infección con dos o más signos de SRIS (2) o con algunos signos de inflamación sistémica en respuesta a la infección (3). Disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una

	respuesta anómala del huésped a la infección (4).
Sepsis grave	Sepsis asociada a disfunción orgánica, hipoperfusión (acidosis láctica, oliguria o alteración del estado mental) o hipotensión.
Shock séptico	Sepsis grave con hipotensión pese al aporte adecuado de líquidos (definido como una infusión de 40-60 mL/kg de cristaloides o una POAP de 12-20 mmHg). También quedan incluidos los pacientes que no están hipotensos tras recibir fármacos inotropos o vasopresores
Síndrome de disfunción orgánica múltiple	Presencia de dos o más alteraciones orgánicas en el paciente crítico que no permiten que la homeostasis se mantenga sin intervención

DE: desviación estándar; IC: índice cardíaco; INR: razón internacional normalizada; PAM: presión arterial media; PAS: presión arterial sistólica; POAP: presión de oclusión de la arteria pulmonar; rpm: respiraciones por minuto; SvO₂: saturación venosa mixta; TTPa: tiempo de tromboplastina parcial activado.

Tabla 1.1. Definiciones relacionadas con sepsis en adultos. Tomada y modificada de: Castro Rebollo P, Nicolás Arfelis JM. Sepsis, sepsis grave y shock séptico. En: Rozman Borstnar C, Cardellach López, coordinadores. Farreras Rozman. Medicina Interna. 18ª ed. Madrid: Elsevier; 2016. p. 2397-402.

La puntuación más empleada para medir la gravedad de la disfunción orgánica es la *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA). Una variación de dos o más puntos en la escala SOFA identifica la disfunción orgánica, considerando una puntuación basal de 0 a menos que se conozca que el paciente tuviera una disfunción orgánica previamente a la aparición de la infección. Los pacientes con puntuación SOFA de 2 o más tienen un riesgo de mortalidad de aproximadamente el 10% en una población hospitalaria general con presunta infección (4).

En la Tabla 1.2 se resumen los criterios utilizados en la escala SOFA.

1.1.2. Etiopatogenia

1.1.2.1. Epidemiología

La sepsis es un problema de salud relevante debido a su elevada frecuencia y

Criterio	0	1	2	3	4
Respiración					
PaO ₂ /FIO ₂ (mmHg) o SaO ₂ /FIO ₂	>400	<400	<300	<200	<100
		221-301	142-220	67-141	<67
Coagulación					
Plaquetas 10 ³ /mm ³	>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 (mmHg)	PAM ≥70	PAM <70	Dopamina <5 o Dobutamina (cualquier dosis)	Dopamina 5,1-15 o Epinefrina ≤0,1 o Norepinefrina ≤0,1	Dopamina >15 o Epinefrina >0,1 o Norepinefrina >0,1
Sistema Nervioso Central					
Escala de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal					
Creatinina (mg/dL) o Flujo urinario (mL/día)	<1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9	>5,0
				<500	<200

PaO₂: presión arterial de oxígeno; FIO₂: fracción de oxígeno inspirado; SaO₂, Saturación arterial de oxígeno periférico; PAM, presión arterial media; a). PaO₂/FIO₂ es relación utilizada preferentemente, pero si no esta disponible usaremos la SaO₂/FIO₂; b). Medicamentos vasoactivos administrados durante al menos 1 hora (dopamina y norepinefrina como ug/kg/min) para mantener la PAM por encima de 65 mmHg.

Tabla 1.2. Escala SOFA. Tomada y modificada de: Singer M et al. The third international Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis 3). JAMA 2016; 315(8):801-10.

gravidad. Afecta aproximadamente al 5% de los pacientes ingresados en el hospital y se estima una incidencia de 300 casos por cada 100 000 adultos/año en España.

Representa el 20% de los ingresos en una unidad de cuidados intensivos (UCI) con una tasa de mortalidad muy elevada (1).

La incidencia es superior en los varones y en no caucásicos. Por edades, es más frecuente entre los recién nacidos y en adultos mayores de 65 años. Estos últimos representan el 60% de todos los casos de sepsis.

La admisión en UCI, bacteriemia, edad avanzada (mayor de 65 años), inmunosupresión, diabetes, cáncer, neumonía adquirida en la comunidad, hospitalizaciones previas y susceptibilidad genética, se consideran factores de riesgo para desarrollo de sepsis (5).

Las infecciones pulmonares, abdominales, del aparato genitourinario y la bacteriemia provocan más del 80% de los casos de sepsis. Las infecciones bacterianas son la causa más frecuente de sepsis. El porcentaje de casos de sepsis ocasionado por bacterias gramnegativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp y *Pseudomonas aeruginosa*) ha ido disminuyendo a lo largo de los años, siendo de 25-30% en el año 2000, mientras que el porcentaje de casos asociados a bacterias grampositivas ha aumentado de manera constante a lo largo de los años y suponen aproximadamente el 40% de los casos, entre las que destacan las debidas a *Staphylococcus aureus* (incluyendo cepas meticilín-resistentes), *Streptococcus* spp y *Enterococcus* spp. Aproximadamente un 5-10% de los casos son debidos a infecciones fúngicas, virales o por protozoos (6, 7).

1.1.2.2. Fisiopatología

Los eventos fisiopatológicos que tienen lugar en la sepsis son múltiples, complejos y afectan a varios sistemas.

En condiciones normales, los patógenos al invadir un organismo activan las células del sistema inmune innato, como las células dendríticas (DC), monocitos/macrófagos, que expresan receptores de reconocimiento de patrones (PPR) que identifican estructuras muy conservadas de los patógenos invasores denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP).

Los PPR también reconocen y se unen a moléculas endógenas denominadas patrones moleculares asociados a daño (DAMP). Dentro de los PPR, se encuentran los receptores tipo Toll (TLR), que al unirse a sus receptivos ligandos se activan vías de señalización que inducen la respuesta inflamatoria. En este proceso se produce la activación del factor nuclear kappa B (NF- κ B) que induce la transcripción de los genes que codifican citoquinas proinflamatorias, como factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleuquina 1 β (IL-1 β), interferón- γ (IFN- γ), IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, quimiocinas, y aminas vasoactivas que atraen a los polimorfonucleares y activan a los macrófagos.

El balance entre mediadores proinflamatorios, como la IL-6, y antiinflamatorios, como la IL-10, que inhiben la producción de TNF α e IL-1, regulan el proceso inflamatorio que incluye la adherencia, la quimiotaxis, la fagocitosis y posterior destrucción del patógeno.

La sepsis ocurre cuando la liberación de componentes proinflamatorios en respuesta a una infección excede la respuesta local, dando lugar a una respuesta generalizada.

Se desconoce el motivo por el cual se desencadena la activación excesiva y anómala de la respuesta inmunitaria, es probable que dependa de los efectos directos de la invasión de microorganismos o sus productos tóxicos, la liberación excesiva de mediadores proinflamatorios y la activación del complemento. Además, ciertos individuos podrían ser genéticamente susceptibles a desarrollar sepsis (8). Varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del acrónimo en inglés *Single Nucleotide Polymorphism*) se han asociado con un aumento en la susceptibilidad a infecciones y peores desenlaces, que incluyen genes que codifican citoquinas, receptores de superficie celulares, ligandos lipopolisacáridos, entre otros (9).

Esta activación inmune anómala y excesiva puede inducir un daño celular generalizado, que es el precursor de la disfunción orgánica. No está totalmente esclarecido el mecanismo de la lesión celular, pero se cree que incluyen la isquemia tisular, la lesión citopática (secundaria a mediadores proinflamatorios y/o inflamatorios) y una tasa alterada de apoptosis.

En este contexto, diversos estudios sugieren que esta respuesta proinflamatoria generalizada estaría acoplada a una respuesta antiinflamatoria, y en algunos casos se puede llegar a desarrollar una respuesta antiinflamatoria compensatoria, la cual podría provocar un estado de inmunosupresión, incrementando la susceptibilidad a las infecciones (6, 10).

La lesión celular puede progresar a disfunción orgánica. Los órganos más comúnmente involucrados son el sistema circulatorio, el pulmón, el tracto gastrointestinal, el riñón y el sistema nervioso, aunque ningún órgano está protegido de las consecuencias de la sepsis.

A pesar de una clara comprensión de los mecanismos inflamatorios y de coagulación que se desencadenan durante la etapa temprana de la sepsis, no se conocen los aspectos celulares subyacentes a los mecanismos que finalmente conducen a la disfunción orgánica y la muerte, aunque podría estar relacionado con la disminución de la utilización de oxígeno asociada a disfunción mitocondrial que puede ir acompañado además de un suministro insuficiente de oxígeno a los tejidos (8).

1.1.3. Manifestaciones clínicas

Los pacientes con sepsis documentada o sospechada presentan típicamente hipotensión, taquicardia, fiebre y leucocitosis. A medida que se incrementa la gravedad, se desarrollan los signos de shock (ej, hipotermia, cianosis) y disfunción orgánica (oliguria, daño renal agudo, disminución del nivel de conciencia). La

presentación es anodina de tal manera que muchas otras condiciones, como la pancreatitis o el síndrome de estrés agudo respiratorio, pueden presentarse de manera similar (5).

Aunque los signos y síntomas de sepsis sean inespecíficos, se pueden clasificar en los propios de la infección responsable, los del síndrome séptico (incluidos los de hipoperfusión tisular) y los del fracaso orgánico (Tabla 1.1).

1.1.4. Diagnóstico

La limitación de las diferentes definiciones de sepsis es la no identificación de aquellos pacientes cuya disfunción orgánica sea verdaderamente secundaria a la infección subyacente. Por ello, el diagnóstico de sepsis y shock séptico requiere de datos clínicos, de laboratorio, radiológicos y microbiológicos.

Es necesario resaltar la importancia de la obtención de cultivos de diferentes orígenes, antes de iniciar el tratamiento antibiótico para intentar confirmar la infección, el agente patógeno responsable y su sensibilidad antibiótica. Sin embargo, en España, alrededor del 30% de los pacientes que ingresan con sepsis no tienen cultivos y, de los que los tienen, más de la mitad son negativos, sin que esto excluya el diagnóstico de sepsis. Sólo el 12-17% de los pacientes con sepsis y el 69% de los pacientes con shock séptico tienen hemocultivos positivos (1).

El diagnóstico diferencial comprende diferentes entidades como la pancreatitis aguda, shock cardiogénico, tromboembolia pulmonar, vasculitis sistémica, intoxicación medicamentosa, hipotermia inducida, fallo hepático fulminante, enfermedades vasculares del colágeno, etc.

1.1.5. Tratamiento

La guía clínica *“Surviving Sepsis Campaign Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock”*, publicada en 2004 (11) y revisada en 2008 (12), 2012 (13) y 2016 (14), indica que la rapidez en el tratamiento inicial del shock séptico es un factor pronóstico de primer orden. La búsqueda del foco de infección, la extracción de las muestras microbiológicas y la instauración del tratamiento con antibióticos son puntos cruciales del manejo inicial del paciente. Ello debe asociarse a la implementación de medidas de mejora hemodinámica (expansión volémica y aminas vasoactivas), así como a la gestión de los demás fallos orgánicos.

1.2. LA VITAMINA D, PROTEÍNA TRANSPORTADORA DE VITAMINA D Y PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

1.2.1. Fuentes de vitamina D

La vitamina D es una vitamina liposoluble que puede ser adquirida de manera exógena a través de los alimentos, de origen vegetal en forma de ergocalciferol (vitamina D₂) y de origen animal como colecalciferol (vitamina D₃), y de manera endógena, por síntesis cutánea por efecto de los rayos ultravioleta, siendo esta última la fuente principal. La vitamina D es el término general que abarca tanto a la vitamina D₂ como a la D₃.

Los mayores contenidos de vitamina D₃ se encuentran en los pescados grasos (atún, caballa, sardina y salmón) y en los aceites de hígado de pescado, mientras que otros alimentos de origen animal, como el hígado de buey, el queso y la yema de huevo contienen pequeñas cantidades. La vitamina D₂ se encuentra presente en cantidades variables en algunas setas y levaduras.

El estatus de la vitamina D, sin suplementación dietética, depende estrechamente de la producción endógena de vitamina D, la cual está influenciada por determinantes genéticos, latitud, estacionalidad, pigmentación de la piel, el uso de protectores solares y la manera de vestir (15, 16).

1.2.2. Metabolismo de la vitamina D

La primera etapa de la síntesis endógena de la vitamina D se inicia en la dermis cuando la luz ultravioleta cataliza la conversión del 7-hidrocolesterol en previtamina D o precalciferol, la cual sufre en una segunda etapa, una isomerización química termodependiente, convirtiéndose en vitamina D₃.

Una vez sintetizada la vitamina D₃, se transporta en sangre hasta el hígado mayoritariamente unida a la proteína transportadora de vitamina D (VDBP, del acrónimo en inglés *Vitamin D binding protein*), por la que posee una alta afinidad, y en menor proporción unida a la albúmina (10-15%), para iniciar su transformación metabólica. La VDBP constituye además el principal lugar de almacenamiento y de

depósito de la 25-hidroxivitamina D (25(OH) D). Menos del 1% de la vitamina D circulante se encuentra de forma libre (17).

La vitamina D (tanto en su forma D2 como en la D3) es biológicamente inactiva. Una vez absorbida o sintetizada en la piel se transporta al hígado, donde sufre una primera hidroxilación por la acción de la enzima 25-hidroxilasa, que forma parte de un sistema enzimático dependiente del citocromo P450 (CYP27A1), convirtiéndose en la 25(OH) D o calcidiol, que es la forma circulante más abundante de la vitamina D y puede considerarse como un índice fidedigno del estado de las reservas de vitamina en el organismo (18, 19).

En el riñón, la 25(OH) D sufre una segunda hidroxilación, transformándose en el metabolito activo, la 1,25-dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂ D) o calcitriol, por la acción de la enzima 1- α -hidroxilasa (CYP27B1). Finalmente, tanto el calcidiol como el calcitriol mediante otro proceso de hidroxilación catalizada por la 24-hidroxilasa (CYP24A1) son metabólicamente inactivadas y secretadas por la bilis, limitando así su disponibilidad.

La síntesis renal de 1,25(OH)₂ D está regulada por otras hormonas. Es estimulada principalmente por la hormona paratiroidea o paratirina (PTH) e inhibida por el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23/Klotho) producido en los osteocitos (20).

La síntesis extrarrenal de 1,25(OH)₂ D se produce en muchos tejidos, como la glándula paratiroides, queratinocitos y células inmunes (21, 22, 23). Por ejemplo, el CYP27B1 se expresa en las células T, activado por macrófagos y DC, permitiendo la formación de 1,25(OH)₂ D en las células inmunes (24).

A diferencia del riñón, la regulación extrarrenal del CYP27B1 está bajo el control de estímulos inmunes y no del circuito de retroalimentación clásico que implica a la PTH y el FGF23 (25). También han sido descritos sitios de actividad 25-hidroxilasa extrahepática, por detección del CYP27 RNAm en el hueso (26) y en leucocitos (27) (Figura 1.1).

1.2.3. Mecanismo de acción de la vitamina D

Una vez que el calcitriol llega a la célula diana, se disocia de la VDBP y se transloca al núcleo, donde se une al receptor de vitamina D (VDR, del acrónimo en inglés *Vitamin D receptor*), el cual se ha encontrado en más de 30 tejidos (28) y por el que presenta una alta afinidad y selectividad. La unión del calcitriol con VDR induce la heterodimerización con el receptor del ácido retinoico (RXR, del acrónimo en inglés

Retinoid X receptor). Este dímero es reconocido por secuencias específicas en las regiones promotoras, denominadas VDRE (del acrónimo en inglés, *Vitamin D responsive element*), de los genes diana de la vitamina D, siendo el resultado final una disminución o una activación de la transcripción de dichos genes. Se ha postulado que el calcitriol participa en la regulación de aproximadamente el 3% del genoma humano (29).

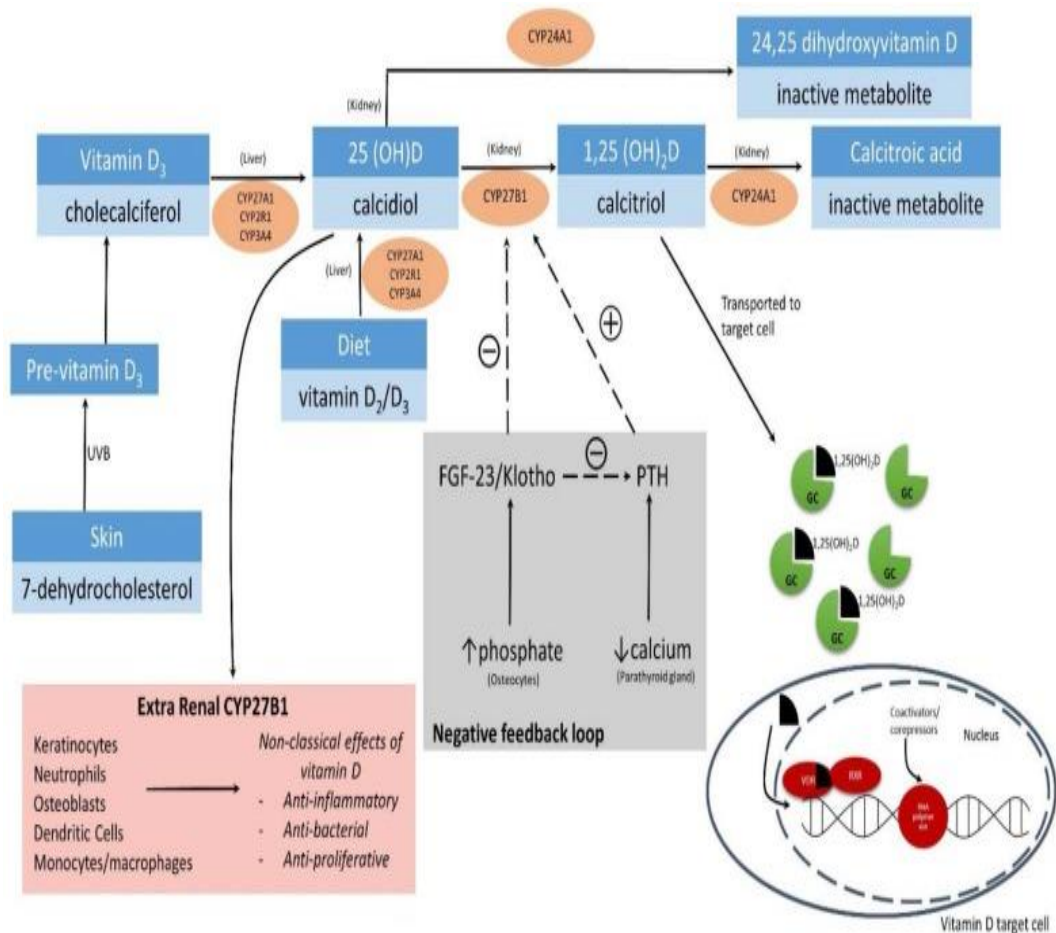


Figura 1.1. Metabolismo de la vitamina D. Tomado de Suaini et al. *Immune modulation by vitamin D and its relevance to food allergy*. Nutrients 2015; 7: 6088-6108.

El receptor VDR es de localización intracelular y forma parte de la superfamilia de los receptores nucleares que actúa como un factor de transcripción ligando-dependiente de numerosos genes relacionados con la síntesis y secreción de PTH y otras proteínas relacionadas con el metabolismo mineral, el crecimiento celular y la diferenciación celular. El gen de la VDR se encuentra localizado en el cromosoma

12q13-14 y presenta múltiples polimorfismos, que van a influir en las acciones de la vitamina D en las células diana (30).

A nivel sistémico, la vitamina D actúa como una hormona y sus acciones corren a cargo de la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$, con una afinidad para VDR aproximadamente unas 1000 veces mayor que por la $25(\text{OH}) \text{D}$. En la regulación a nivel paracrino y autocrino, intervienen las enzimas 1- α -hidroxilasa y 24-hidroxilasa, la primera genera el metabolito activo y la segunda lo inactiva (28,30).

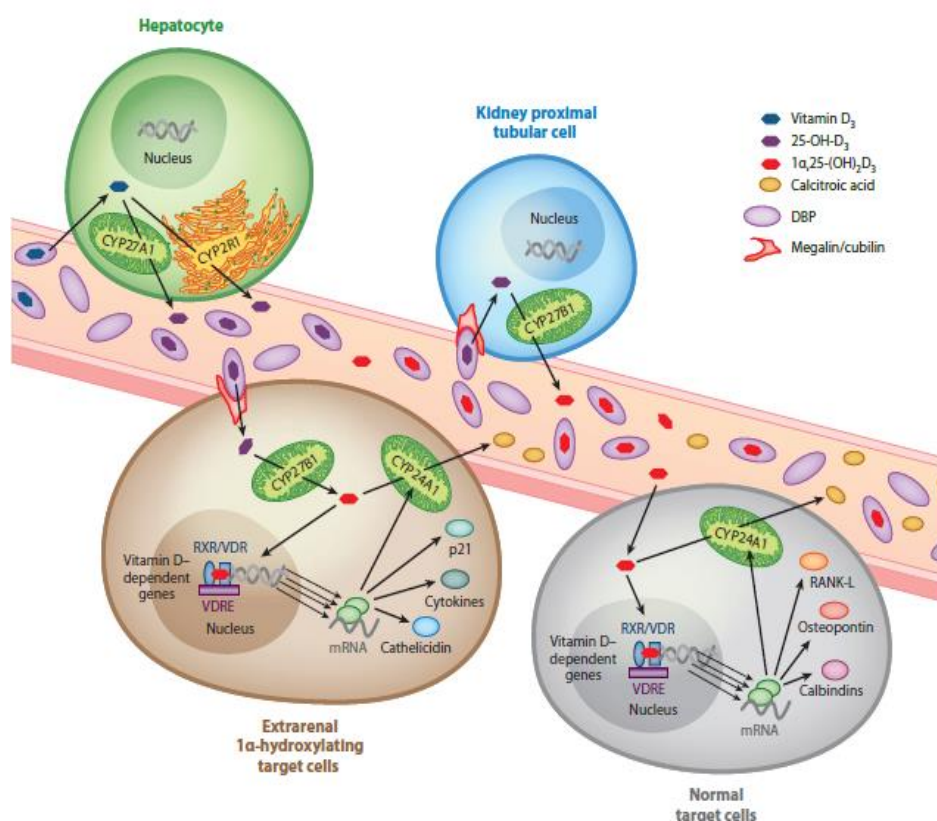


Figura 1.2. Mecanismo de acción de la vitamina D. Tomado de Jones G. *Extrarenal Vitamin D activation and interactions between Vitamin D₂, Vitamin D₃, and Vitamin D analogs*. Annu. Rev. Nutr. 2013; 33(1): 23-44.

1.2.4. Efectos biológicos de la vitamina D

Dentro de las acciones clásicas de la vitamina D se encuentran la regulación del metabolismo óseo y mineral. Así, en el intestino aumenta la absorción de calcio y fósforo, en el riñón regula la reabsorción de calcio y fósforo así como la síntesis de

calcitriol, en el hueso interviene en la regulación del recambio óseo y en las glándulas paratiroides actúa inhibiendo la síntesis y secreción de PTH.

En otros tejidos, las acciones son múltiples, destacando sus efectos antiproliferativos, inductores de la diferenciación e inmunomoduladores.

En la Tabla 1.3 se resumen las principales acciones de la vitamina D (31).

Acciones esqueléticas de la vitamina D			
<u>Protección esqueleto mineral</u>	<u>Activación osteoclastos</u>	<u>Apertura de canales de calcio</u>	
Desarrollo y mantenimiento del esqueleto mineral, mediante la adecuada formación osteoblástica y resorción osteoclástica Prevención y tratamiento del HPT y enfermedad ósea de alto recambio	Maduración y activación de los osteoclastos mediada por los osteoblastos	Incrementa sus niveles intracelulares favoreciendo la movilidad y cambios conformacionales indispensables para una función osteoblástica adecuada	
Acciones extraesqueléticas de la vitamina D			
<u>Protección renal</u>	<u>Protección cardiovascular</u>	<u>Control de inflamación sistémica</u>	<u>Regulación de apoptosis</u>
Efectos antiproteinúricos	Inhibición SRAA (sistema renina-angiotensina-aldosterona)	Inhibición Th1	Modulación de la expresión genética Aumento de calcio intracelular
Aumento de expresión de nefrina	Regulación ANP (péptido natriurético atrial)	Activación Th2	Apoptosis de células cancerígenas
Inactivación de NF-κB (acción antiinflamatoria)	Inhibición proliferación células musculares lisas	Inducción de CD4+CD25+	
Inhibición de TACE (<i>TNFα converting enzyme</i>)	Disminución de la aterosclerosis y calcificación vascular	Inhibición del TNFα, ICAM1 y VCAM1	

Tabla 1.3. Acciones de la vitamina D. Tomado de Bover et al. *Vitamina D, receptor de la vitamina D e importancia de su activación en el paciente con enfermedad renal crónica. Nefrología* 2015; 35(1): 28-41.

1.2.5. Proteína transportadora de vitamina D (VDBP / Globulina Gc)

La mayoría de la vitamina D circulante se encuentra unida a la VDBP (también conocida como globulina Gc), como ya se ha comentado en el apartado 1.2.2.

La globulina Gc humana fue identificada por primera vez por Hirschfeld en 1959 (32), pero no es hasta 1975 que se descubre su función como proteína transportadora de vitamina D (33).

La VDBP protege a la vitamina D de la biodegradación, limita su acceso a las células diana y facilita la reabsorción renal de la vitamina D. Además, tiene función antiinflamatoria e inmunomoduladora (34, 35), transporta ácidos grasos, protege al complemento C5a de su degradación, contribuye a la activación de los macrófagos y a la quimiotaxis de los neutrófilos, y actúa como depurador (*"scavenger"*) de la actina liberada en las células necróticas.

El gen de la VDBP humana (GC) forma parte de un cluster, que incluye a los genes de la albúmina y la alfa-fetoproteína, localizado en el cromosoma 4, que consta de 13 exones y se expresa en muchos tejidos, principalmente en hígado, riñón, gónadas, tejido adiposo y neutrófilos.

El gen GC presenta un elevado polimorfismo. Se han identificado 3 variantes comunes (GC1F, GC1S y GC2) y más de 120 variantes raras. Estos polimorfismos afectan a la función de la proteína y a su capacidad de unión a la vitamina D. Estos hechos podrían explicar las diferencias raciales y geográficas que presentan dichos alelos (36, 37).

La VDBP es una alfa-2-globulina formada por una sola cadena polipeptídica de 52 kDa, que presenta 3 dominios. A través del dominio I se une a la vitamina D y del dominio III a la actina (38).

La hipótesis de la hormona libre postula que la fracción libre es la única capaz de ejercer sus efectos fisiológicos en los tejidos diana mientras las hormonas unidas a proteínas son biológicamente inactivas. Esta hipótesis se puede aplicar a las moléculas lipofílicas, como la 25(OH) D, en aquellas células que presentan el sistema de transporte megalina/cubulina (39). Así, la unión de la 25(OH) D a la VDBP, dificulta la acción de la 1- α -hidroxilasa en las células diana. Las células epiteliales situadas en el túbulo proximal renal, expresan tanto la megalina como la cubulina, las cuales facilitan la entrada del complejo 25(OH) D-VDBP dentro de la célula. Una vez internalizado, mediante endocitosis mediada por la megalina, la 25(OH) D se disocia

de la VDBP y puede ser metabolizada en su forma libre biológicamente activa (40) (Figura 1.3). La megalina también se expresa en otras células, como la placenta, las glándulas mamarias y paratiroides, las cuales presentan actividad 1- α -hidroxilasa extrarrenal. Sin embargo, el significado funcional de estos hallazgos aún no está totalmente esclarecido (41).

En relación a la metodología disponible para la cuantificación de VDBP, existen en el mercado, inmunoensayos tipo sándwich que tanto usan anticuerpos monoclonales como policlonales, detectando estos últimos múltiples epitopos de la proteína. En 2015, Hoofnagle et al. (42) y Nielson et al. (43) desarrollaron un método basado en la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS). Las concentraciones obtenidas eran reproducibles con las obtenidas con los inmunoensayos policlonales (42, 43). Esta falta de estandarización en los ensayos de la VDBP, limitan la comparación entre diferentes ensayos y estudios (44).

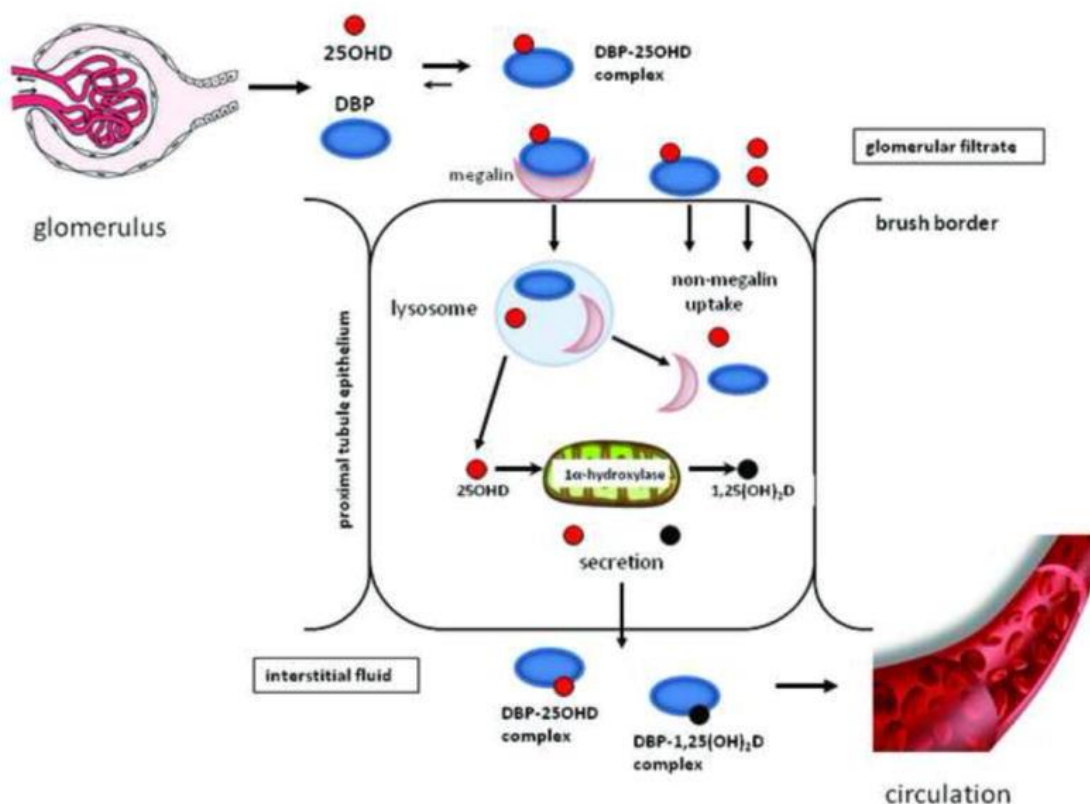


Figura 1.3 Megalina y absorción de 25-hidroxivitamina D en el riñón. Tomado de: Chun RF et al. Vitamin D and DBP: The free hormone hypothesis revisited. J Steroid Biochem Mol Biol 2014; 144: 132-37.

1.2.6. Estado de la vitamina D

La medición sérica de 25(OH) D se considera el mejor marcador del estado de la vitamina D aunque cuestiones metodológicas limitan la comparación entre estudios y el establecimiento de puntos de corte para definir la hipovitaminosis D (30, 44).

1.2.6.1. Metodología disponible

Actualmente los inmunoensayos automatizados constituyen el principal método de medida en la mayoría de los laboratorios, aunque los métodos cromatográficos con detección por espectrometría de masas en tándem están siendo cada vez más utilizados.

Los métodos más frecuentemente utilizados se basan en el inmunoensayo (el radioinmunoensayo (RIA), enzoinmunoensayo (EIA), inmunoensayo con detección por quimioluminiscencia (CLIA)), la cromatografía líquida con detección ultravioleta (HPLC-UV) y la LC-MS/MS, cada uno de los cuales presenta ventajas y limitaciones. A día de hoy, el método por LC-MS/MS, es considerado como el de referencia o “gold estándar” para la cuantificación de 25-hidroxivitamina D.

La existencia de una gran variabilidad entre ensayos e interlaboratorio ha sido ampliamente reconocida, siendo un aspecto fundamental la falta de un estándar de referencia para 25-hidroxivitamina D (45, 46, 47). En 2013, el *National Institute of Standards and Technology* (NIST) empezó a comercializar el material de referencia estándar certificado (SRM), SRM 972a, para 25(OH) D (36).

La participación en un programa de control externo de calidad representa una forma excelente de evaluar la variabilidad intra e inter métodos, siendo el programa DEQAS (*Vitamin D External Quality Assessment Scheme*), el más utilizado con más de 1000 participantes en todo el mundo.

La disponibilidad de materiales de referencia así como la participación en programas de control de calidad constituye un aspecto fundamental para disminuir la variabilidad metodológica e interlaboratorio, proporcionando un aumento de la fiabilidad de los resultados (30).

1.2.6.2. Valores de referencia y objetivos de salud

Existe controversia sobre el punto de corte para definir el estatus de vitamina D en base a los valores de 25(OH) D.

El grupo de la *Endocrine Society* propone que la deficiencia de vitamina D corresponde a concentraciones de 25(OH) D inferiores a 20 ng/mL (50 nmol/L), la insuficiencia a concentraciones de 20 a 29.9 ng/mL (52-72 nmol/L) y la suficiencia a concentraciones superiores a 30 ng/mL (75 nmol/L) (48), y el comité del *Institute of Medicine* (IOM), considera un valor inferior a 20 ng/mL (50 nmol/L) como un indicador de deficiencia de la vitamina D (49).

Las principales discrepancias entre la IOM y la *Endocrine Society* se refieren a punto de corte de salud general. La recomendaciones de la IOM son para garantizar la salud del esqueleto y sugiere que no hay nivel de evidencia suficiente para hacer recomendaciones de los posibles beneficios no esqueléticos (50), mientras que la *Endocrine Society* considera que niveles séricos de 25(OH) D superiores a 30 ng/mL proporcionan mayores beneficios para la salud en general comparados con los valores de 20 ng/mL.

Por lo que, no existe un punto de corte aceptado por todos los expertos para definir la deficiencia de vitamina D (49, 50, 51).

1.2.7. Papel de la vitamina D en el sistema inmune

1.2.7.1. Inmunidad innata

El sistema inmunitario innato actúa como primera línea de defensa frente a microorganismos patógenos. Las células natural killer (NK), las células T natural killer (NKT), las células linfoides innatas (ILC), los macrófagos, las DC, los eosinófilos, los neutrófilos y los basófilos, así como citoquinas, quimiocinas y péptidos antimicrobianos que en conjunto generan respuestas inespecíficas constituyendo nuestra inmunidad innata o natural.

En 1986, Rook et al describieron que la 1,25(OH)₂ D inhibía el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* en macrófagos humanos *in vitro* (52). Dos décadas después se observa que el TLR reconoce al patógeno y activa una cascada

intracelular de señalización que lleva a la producción de citoquinas y péptidos antimicrobianos (53). Paralelamente se describió que la vitamina D inducía la síntesis de péptidos antimicrobianos, para disminuir la inflamación excesiva e inhibir la síntesis de citoquinas proinflamatorias (54,55), a través de VDREs presentes en la región promotora de genes que codifican los péptidos antimicrobianos humanos, catelicidina (hCAP18, también denominada LL-37) y β -2-defensina (DEFB) (56).

Liu et al. demostraron que cuando el *M. tuberculosis* era reconocido por los TLRs de los monocitos se inducía la activación de los genes de la CYP27B1 y del VDR, conduciendo a la modulación directa de la expresión génica, favoreciéndose la producción de catelicidina y β -2-defensina, y que la deficiencia de vitamina D limitaba la producción de estos péptidos (57). Otras citoquinas, como el IFN- γ y la IL-4 también influyen en la expresión de CYP27B1 (58).

Posteriores estudios han confirmado la capacidad de la 1,25(OH) $_2$ D de inducir la expresión de catelicidina en células mieloides (59), células del epitelio bronquial (60) y en queratinocitos (61).

La síntesis de catelicidina, estimulada en presencia de 1,25(OH) $_2$ D (56), es esencial para las defensas antimicrobianas y la actividad citotóxica de las células NK contra células tumorales (62). Además, se ha demostrado que participa en la autofagia inducida por la vitamina D en monocitos y macrófagos (63, 64).

La 1,25(OH) $_2$ D, además de sus propiedades antimicrobianas, tiene propiedades antiinflamatorias, reprimiendo la expresión de TLRs (55) e inhibiendo la producción de citoquinas proinflamatorias en DC y otras células inmunes innatas (65, 66).

La vitamina D también puede inhibir las respuestas de las células T-helper 1 (Th1) mediante la supresión de la producción de IL-12 por DC (67, 68). El complejo 1,25(OH) $_2$ D-VDR impide la unión de NF- κ B a la región promotora de la IL-12, inhibiendo la expresión del RNAm de la IL-12. Mientras que la síntesis de IL-12 es inhibida, se aumenta la producción de IL-10 por DC, junto con la inducción de células T reguladoras tipo 1 (Tr1) (67, 69).

1.2.7.2. Inmunidad adaptativa

La inmunidad adaptativa es capaz de reconocer y eliminar de manera selectiva microorganismos y moléculas extrañas específicas. Los linfocitos T y B, son células especializadas con capacidad de modular su respuesta y dirigirla frente a un

determinante antigénico concreto. Los linfocitos B producen las inmunoglobulinas o anticuerpos, capaces de interactuar con el antígeno y son los responsables de la inmunidad humoral, mientras que la respuesta inmune mediada por los linfocitos T se conoce como inmunidad celular. Mientras que los mecanismos de la inmunidad innata son inespecíficos pero rápidos en su actuación, los de la inmunidad adaptativa son tardíos pero más específicos. Las características importantes de la inmunidad adaptativa son su diversidad, memoria, especialización y tolerancia.

En las células B, la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ inhibe la diferenciación, la proliferación, el inicio de la apoptosis y disminuye la producción de inmunoglobulinas, de manera indirecta a través de la mediación de las células T-helper (Th) y directamente actuando en la homeostasis de las células B.

Hewison propuso cuatro posibles mecanismos a través de los cuales la vitamina D puede influir en la función de las células T (70) (Figura 1.4):

- i. Efectos endocrinos directos en las células T mediado por $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ vía sistémica.
- ii. Conversión autocrina de $25(\text{OH}) \text{D}$ en $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ en las células T.
- iii. Efectos paracrinicos de la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ en las células T tras la conversión del $25(\text{OH}) \text{D}$ en $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ en monocitos o DC.
- iv. Efectos indirectos del calcitriol en la presentación de antígenos a las células T vía APC.

El calcitriol suprime la proliferación, la diferenciación y la producción de citoquinas de las células Th (71). *In vitro*, disminuye la síntesis de citoquinas pro inflamatorias producidas por las células Th1 (IL-2, $\text{INF}\gamma$ y $\text{TNF}\alpha$) y promueve las citoquinas anti inflamatorias producidas por las células Th2 (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10) (68, 72, 73). También suprime directamente la síntesis de IL-17 por las Th17 a nivel transcripcional (74). Sin embargo, no están totalmente esclarecidos los efectos directos del calcitriol en las citoquinas producidas por las células Th2 (75). Otro grupo de células T que pueden ser activadas por el calcitriol son las células T reguladoras (Tregs), las cuales suprimen las respuestas pro-inflamatorias de otras células T y contribuyen a la homeostasis inmune a través de varios mecanismos, entre los cuales, se encuentran el contacto célula-célula y la secreción de factores anti-inflamatorios, como la IL-10 y el $\text{TGF } \beta$ (76, 77). Cuando la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}$ inhibe la diferenciación y maduración de las DC, transformándose en DCs tolerogénicas, también induce la diferenciación periférica de las células Tregs (70, 78) (Figura 1.4).

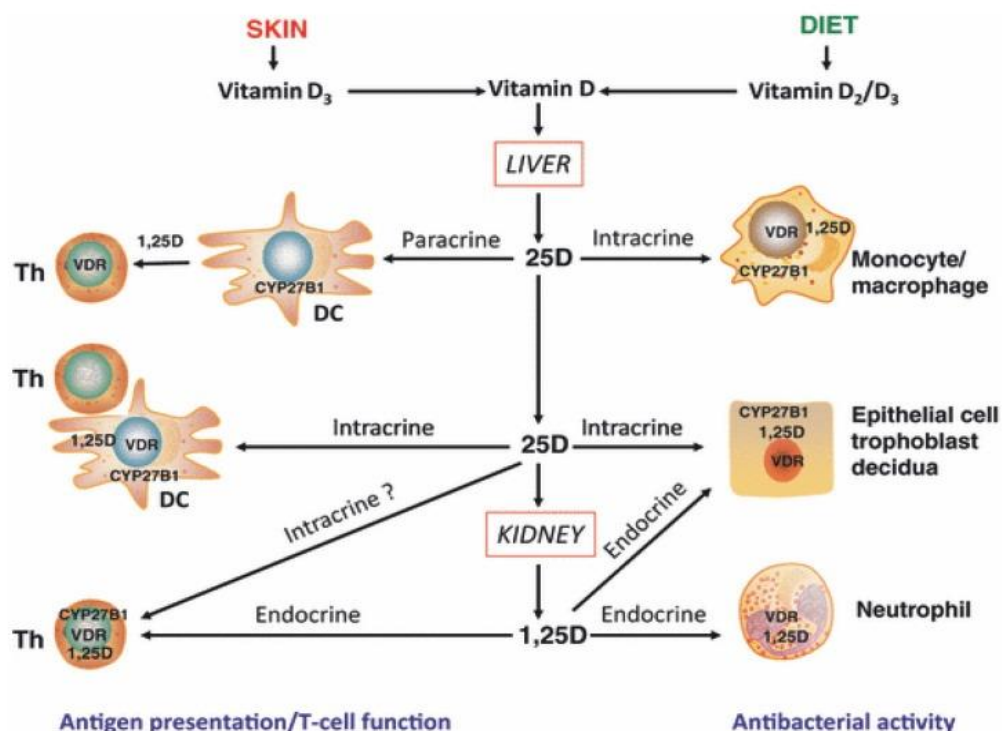


Figura 1.4 Mecanismos de la vitamina D en la inmunidad innata y adaptativa. Tomado de: Prietl et al. *Vitamin D and Immune function*. *Nutrients* 2013, 5: 2502-2521.

1.2.8. Péptidos antimicrobianos vitamina D dependientes

Los péptidos antimicrobianos (AMPs) son unos péptidos catiónicos, de pequeño tamaño, evolutivamente muy primitivos que forman parte de la respuesta inmune innata con efectos antimicrobianos potentes, ya que actúan sobre numerosas bacterias grampositivas y gramnegativas, hongos, y virus y son resistentes a la proteólisis, por lo que los patógenos no desarrollan resistencia frente a ellos.

Existen cada vez más evidencias de que también de que los AMPs poseen funciones inmunomoduladoras, que incluirían la cicatrización de heridas, la secreción de citoquinas, la quimiotaxis, la apoptosis, la inflamación, la fagocitosis, entre otros. (79, 80).

1.2.8.1. La catelicidina humana (LL-37)

El único miembro conocido de la familia de las catelicidinas expresado en humanos es la LL-37 (leucina-leucina-37) (81), fue identificada por primera vez en 1995. Esta

molécula catiónica es un péptido de 37 aminoácidos, que se genera por escisión enzimática a partir de la preprocatelicidina humana (hCAP18). El único gen que la codifica se localiza en el cromosoma 3 y se expresa en diferentes células, tejidos y fluidos corporales.

La LL-37 es producida principalmente en las células implicadas en la inmunidad innata (neutrófilos, monocitos, células NK, mastocitos y células B) y también en los enterocitos, células epiteliales y queratinocitos, y es medible en casi todos los líquidos biológicos.

Su expresión parece estar regulada por un mecanismo complejo que además difiere según el tipo de célula y contexto. Es inducida por la activación de los receptores TLRs mediados por la vitamina D en las células de la inmunidad innata, el INF γ y la IL-15 (81) e inhibida por la IL-6, glucocorticoides, determinadas exotoxinas bacterianas y el FGF23 (81, 82).

Las funciones antimicrobianas de la LL-37 se atribuyen a su estructura secundaria. Así, la hélice N-terminal se relaciona con la quimiotaxis y la resistencia a la proteólisis y la hélice C-terminal es responsable de los efectos antimicrobianos. Cuando alcanza la membrana microbiana, la recubre y la perfora, causando la formación de poros en la misma y su posterior destrucción. Su acción antivírica se debe a su capacidad de interacción con la envoltura de la membrana y la cápside proteica (81).

Actúa como mediador en la inducción de autofagia en los monocitos y macrófagos humanos, permitiendo destruir patógenos intracelulares (80).

In vitro, la LL-37 induce la quimiotaxis, ya que se expresa en las células epiteliales infectadas, pudiendo atraer directamente a las células del sistema inmune innato, como los monocitos, neutrófilos y las DC. Los neutrófilos son células fagocíticas especializadas y la mayor fuente de LL-37, que se almacena en los gránulos y puede ser liberada rápidamente en caso de infección. Estimula la migración y proliferación de células epiteliales y queratinocitos. Además, puede incrementar la reacción inflamatoria suprimiendo la apoptosis y prolongando la supervivencia de los neutrófilos (81).

También puede activar la secreción tanto de citoquinas pro-inflamatorias, como las IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-20 y TNF α en diferentes células y también citoquinas anti-inflamatorias, induciendo la síntesis de IL-10 e IL-19 en monocitos y macrófagos. En la actualidad no están definidas las concentraciones fisiológicas y patológicas de la LL-37 (80).

En cuanto a la metodología disponible para su medición, las concentraciones en sangre varían dependiendo del método, tienen una dispersión importante y no se correlacionan con los niveles simultáneos de 25(OH) D, exceptuando en aquellos que presentan deficiencia de vitamina D. Para la interpretación de los resultados debe tenerse en cuenta la fase evolutiva de la enfermedad y su tratamiento, ya que sus niveles varían según evoluciona la enfermedad (82).

1.2.8.2. La β -2-defensina

Las defensinas son otros agentes antimicrobianos evolutivamente muy primitivos.

En el ser humano, sólo se conoce que la β -2-defensina (HBD2), dentro de la familia de las defensinas, esté modulada por la vitamina D. Es un péptido catiónico de pequeño tamaño que se expresa, *in vitro*, en el pulmón, el timo, la piel, el intestino, los leucocitos, el hígado y la tráquea, y cuya secreción está inducida por determinados productos bacterianos y por citoquinas proinflamatorias, como TNF α (79).

El gen de la HBD2 presenta un VDRE en su región promotora, pero la inducción por la vitamina D es más modesta, comparado con la de la LL-37.

Como la LL-37, tiene función antimicrobiana, especialmente contra bacterias gram negativas, función quimiotáctica e induce la secreción de citoquinas. Las evidencias apuntan que actúan sinérgicamente junto con la LL-37 (80).

1.3. PAPEL DE LA VITAMINA D, LA VDBP Y LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS EN LA SEPSIS

1.3.1. Vitamina D y sepsis

La detección de deficiencia de vitamina D o hipovitaminosis D se ha incrementado en la población general en los últimos años y se ha asociado con diversas enfermedades, como el infarto de miocardio, diabetes, enfermedades autoinmunes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cáncer, tuberculosis y con un incremento en la mortalidad en la población general (83).

Diversos estudios, tanto observacionales como retrospectivos, muestran una alta prevalencia de deficiencia de vitamina D (84, 85, 86, 87, 88) y una asociación entre la deficiencia pre-ingreso de vitamina D en pacientes críticos adultos y la mortalidad (89, 90, 91), el daño renal agudo (92), la incidencia de fallo agudo respiratorio (93) y el desarrollo de sepsis (94). Estudios retrospectivos sugieren que niveles bajos de vitamina D estarían asociados con un incremento de mortalidad en pacientes sépticos (95, 96).

Recientes metaanálisis corroboran estos hallazgos, como el de Han et al., en 2014, que evalúa el riesgo de sepsis, la mortalidad intrahospitalaria y a los 30 días en pacientes críticos, sugiriendo que la deficiencia de vitamina D incrementa la susceptibilidad de infecciones severas y mortalidad en pacientes críticos (97); o el realizado por Uppala et al., en 2015, que concluye que la deficiencia de vitamina D estaría asociada con un incremento de la susceptibilidad de sepsis (98).

Ambos metaanálisis no están exentos de limitaciones. Una de ellas, es que habiendo sólo un año de diferencia entre ambas, se incluyan diferentes estudios en los dos metaanálisis y que la mayoría de los estudios incluidos sean retrospectivos (99, 100).

Por otra parte, existen estudios que contradicen estos hallazgos. Para Aygencel et al, estudio prospectivo con 201 pacientes, los niveles de vitamina D no son un factor de riesgo independiente para la mortalidad (101). En el trabajo de Barnett et al, estudio de casos-control con 478 pacientes, se muestra que la deficiencia de vitamina D en pacientes críticos con sepsis no estaría asociada con la mortalidad (102). Cecchi et al, estudio de cohortes con 170 pacientes críticos con sepsis, tampoco hallaron asociación con la mortalidad (103). Más recientemente, Ala-Kokko et al, en un estudio prospectivo observacional con 610 pacientes con sepsis severa o shock séptico, observaron que la deficiencia de vitamina D al ingreso en UCI no estaría asociada con la mortalidad a 90 días (104) y, Ratzinger et al, en un estudio de cohortes de 461 pacientes sépticos, tampoco encontraron asociación entre ambas variables (100).

En resumen, el papel de la vitamina D en la sepsis es controvertido y no se ha podido demostrar la causalidad entre la deficiencia de vitamina D y la mortalidad.

Además, las diferencias metodológicas hasta la estandarización en la medición de la vitamina D, así como las definiciones de deficiencia o suficiencia de vitamina D y de sepsis, que son muy heterogéneas, dificulta la comparación entre estudios (99).

1.3.2. Péptidos antimicrobianos, VDBP y sepsis

Según la bibliografía consultada, se han publicado cuatro estudios en los que se han cuantificado los niveles de catelicidina en pacientes críticos, y sólo en uno de ellos se relaciona con el desenlace.

En 2009, Jeng et al., estudio de casos y controles, hallaron niveles más bajos de catelicidina y VDBP en pacientes críticos (n=49) comparado con controles sanos (n=21) y hallaron una asociación positiva entre los niveles de catelicidina y el estatus de la vitamina D. En este estudio las muestras fueron extraídas durante los dos días posteriores al ingreso en UCI (84).

En 2013, Barbeiro et al, no encontraron diferencias significativas en los niveles de catelicidina entre pacientes críticos con y sin sepsis al ingreso en UCI (n=130) y no hallaron asociación entre los niveles de catelicidina y los niveles de vitamina D (105).

En 2015, Leaf et al., estudio de cohortes prospectivo, evidenciaron que niveles bajos de 25(OH) D, al ingreso en UCI estaban asociados con valores bajos de catelicidina, los cuales estaban asociados a un mayor riesgo de mortalidad a 90 días. En este último estudio, también se determinaron los niveles de VDBP, no encontrándose diferencias significativas entre supervivientes y no supervivientes. (106).

Por otra parte, Greulich et al., estudio de cohortes prospectivo, hallaron niveles elevados de catelicidina en pacientes críticos con sepsis comparado con pacientes críticos no sépticos, al ingreso en UCI y con controles sanos y hallaron asociación negativa entre los niveles de catelicidina y 25(OH) D ($p=0,27$) (88).

No se ha encontrado en la bibliografía consultada relación entre niveles de β -2-defensina en pacientes críticos ni sépticos.

El papel de los péptidos antimicrobianos en la sepsis no está totalmente esclarecido, pero según Pinheiro (107) existen evidencias de que las catelicidinas pueden tener un carácter dual, actuando como proinflamatorias o antiinflamatorias, dependiendo del modelo experimental y del agente patógeno (Figura 1.5).

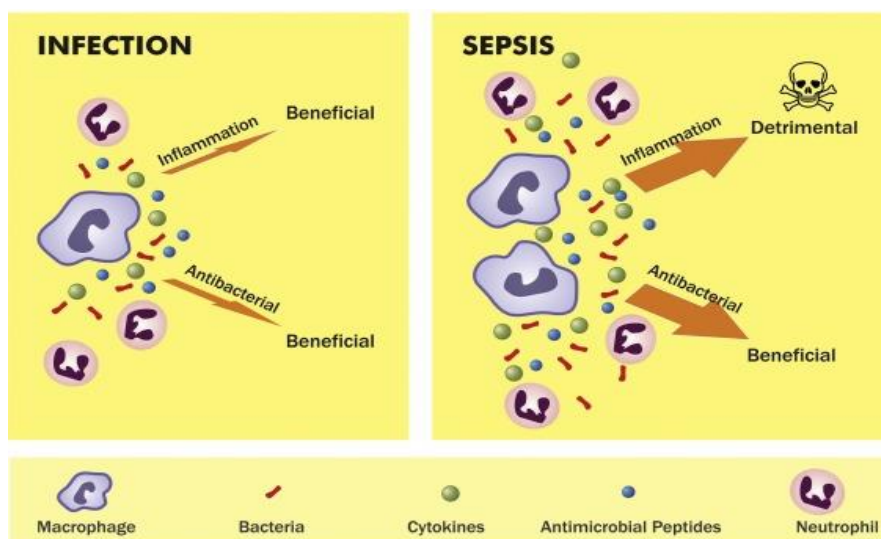


Figura 1.5 Papel de los péptidos antimicrobianos en la infección localizada y en la sepsis. Tomado de: Pinheiro da Silva F. The dual role of cathelicidins in systemic inflammation. Immunology Letter 2017; 182: 57-60.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La vitamina D desempeña un papel importante en la regulación de la respuesta inmune innata y adaptativa, inhibiendo la producción de citoquinas proinflamatorias, e induciendo la síntesis de péptidos antimicrobianos, como la catelicidina y la β -2-defensina. La VDBP, proteína de regulación de la biodisponibilidad de la vitamina D, tiene funciones antiinflamatorias y autoinmunes. El desarrollo de la sepsis tiene una compleja fisiopatología que da lugar a una activación excesiva de la inmunidad innata y adaptativa. Dado esto, la vitamina D podría estar implicada en el pronóstico de la sepsis.

2.1. HIPÓTESIS

Niveles disminuidos de vitamina D, cuantificada como los niveles de 25(OH) D, de péptidos antimicrobianos vitamina D dependientes (catelicidina y β -2-defensina) y de VDBP en pacientes críticos con sepsis grave y/o shock séptico podrían estar relacionados con el pronóstico o mortalidad de estos pacientes.

2.2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los niveles de 25(OH) D y metabolitos relacionados (1,25(OH)₂ D, VDBP, catelicidina, β-2-defensina) al ingreso en UCI de un grupo de pacientes críticos con sepsis grave y/o shock séptico y relacionarlos con parámetros inflamatorios y pronóstico/mortalidad.

2.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la prevalencia de deficiencia de vitamina D en pacientes críticos adultos en nuestra área sanitaria con diagnóstico de sepsis grave y/o shock séptico al ingreso en UCI, evaluando los niveles de 25 (OH) D séricos, con metodología estandarizada.
- Analizar las diferencias estacionales (a lo largo del año) en los niveles séricos de los parámetros a estudio: 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β-2-defensina.
- Analizar la correlación de los niveles séricos de 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β-2-defensina con la edad.
- Analizar la correlación entre los niveles séricos de 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β-2-defensina con parámetros de inflamación (leucocitos, proteína C reactiva y procalcitonina).
- Analizar la relación entre los niveles séricos de 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β-2-defensina y pronóstico/mortalidad.

3. METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio prospectivo observacional realizado en la UCI de adultos del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) en Santander, entre septiembre de 2014 a septiembre de 2016.

3.2. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE

Este proyecto ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria (ref. 2014.159, anexo 1) y se obtuvo el consentimiento informado para todos los pacientes (anexo 2). En aquellas circunstancias, en las que el paciente fue incapaz de dar su consentimiento, se obtuvo de su representante legal.

3.3. PACIENTES

Se seleccionaron 75 pacientes procedentes del Área de Salud I (Santander) del Servicio Cántabro de Salud (área de referencia del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla) que ingresaron de manera consecutiva con sepsis grave y/o shock séptico en la UCI, entre setiembre de 2014 y setiembre de 2016.

Se aplicaron los siguientes criterios de inclusión:

- Diagnóstico de sepsis grave y/o shock séptico según criterios de *2001 International Sepsis Definitions Conference* y
- Edad mayor de 18 años.

Se excluyeron aquellos pacientes que no cumplieron los criterios de inclusión o no hubieran dado el consentimiento informado.

Los datos demográficos y los datos clínicos relevantes se obtuvieron de la historia clínica del paciente y se presentan en los resultados. Todos estos datos se registraron en una base de datos, para su posterior análisis.

Durante todo el estudio, se ha preservado la confidencialidad de la identidad y de los datos procedentes de los pacientes, de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal. Para ello se han identificado las muestras procedentes de los pacientes con un número correlativo según el orden de incorporación al estudio.

3.4. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS Y ANÁLISIS

Por protocolo en este hospital, al ingreso en UCI, se les realiza a los pacientes una extracción sanguínea para el estudio del perfil de sepsis, que consiste en las siguientes determinaciones: glucosa, urea, creatinina, sodio, potasio, bilirrubina total, lactato, procalcitonina (PCT), proteína C reactiva (PCR) y hemograma.

El perfil de sepsis fue realizado en el Laboratorio de Urgencias del HUMV. El hemograma en sangre total se analizó en el analizador Unicel DxH 800 (Beckman Coulter®).

Las determinaciones séricas se realizaron mediante análisis automatizado en un Dimension EXL 200 (Siemens®), usando reactivos y siguiendo las instrucciones suministradas por el fabricante.

La glucosa se determinó mediante el método enzimático de la hexoquinasa, la urea mediante el método enzimático de la ureasa/glutamato deshidrogenasa, la creatinina mediante el método enzimático acoplado y tamponada con TAPS, la bilirrubina mediante una modificación del método de Doumas por diazoreacción, el lactato mediante el método enzimático de la deshidrogenasa láctica, los iones (sodio y potasio) mediante potenciometría indirecta, la PCR mediante inmunoensayo turbidimétrico mejorado de partículas (PETIA). La determinación de procalcitonina se realizó en el analizador automatizado Cobas e411 (Roche Diagnostics®) mediante inmunoensayo por electroquimioluminiscencia.

El suero sobrante fue alicuotado y conservado a -80 °C hasta su posterior análisis, para determinación de 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, péptidos antimicrobianos dependientes de la vitamina D (catelicidina y β-2-defensina) y VDBP.

3.4.1. 25(OH) D

Los niveles de 25(OH) D séricos se midieron en el analizador automatizado LIAISON XL (Diasorin®) mediante inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA), siguiendo las instrucciones del fabricante.

La metodología utilizada se encuentra estandarizada frente al material de referencia estándar certificado SRM 972 a.

El laboratorio de Bioquímica del HUMV dónde se han medido los niveles de 25(OH) D participa en el programa de control externo de calidad DEQAS y posee el sello de calidad de dicha entidad.

3.4.2. 1,25(OH)₂ D

Los niveles de 1,25(OH)₂ D séricos se midieron en el analizador automatizado LIAISON (Diasorin®) mediante inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA),

siguiendo las instrucciones del fabricante. Los valores de referencia en el laboratorio de nuestro hospital son 25-66 pg/mL

3.4.3. VDBP

La VDBP en suero se cuantificó mediante inmunoensayo ELISA tipo sándwich Quantikine Human Vitamin D Binding Protein ELISA kit (R&D Systems®). El fabricante no aporta datos de valores de referencia indicativos.

3.4.4. Catelicidina

La catelicidina (LL-37) en suero se determinó mediante inmunoensayo ELISA tipo sándwich HK321 Human LL-37 ELISA kit (Hycult Biotech®). Según datos del fabricante, los niveles séricos de catelicidina oscilan entre 25-250 ng/mL.

3.4.5. β -2-Defensina

La β -2-Defensina en suero se determinó mediante inmunoensayo ELISA tipo sándwich Human Beta Defensin 2 ELISA kit (Alpha Diagnostic International®). Según datos del fabricante, los niveles séricos de β -2-defensina oscilan entre 12,5-200 pg/mL.

3.4.6. Otros parámetros complementarios

Se analizaron también otros parámetros complementarios: determinación de calcio mediante la modificación de la reacción calcio o-cresoltaleína complexona (OCPC) de Schwartzenbach, la determinación de fósforo mediante la modificación del método clásico de fosfomolibdato de Fiske-Subbarow, la determinación de albúmina mediante la adaptación del método de fijación del colorante púrpura de bromocresol (BCP) de Carter en el analizador automatizado Dimension EXL 200 (Siemens®) y la determinación de PTH mediante inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA) en el analizador automatizado Ysis (IDS®), siendo los valores de referencia utilizados en

nuestro laboratorio de 10-45 mg/dL. La determinación de pH y de la saturación venosa central de oxígeno (SvcO₂) se realizaron en el analizador ABL825 Flex (Radiometer®) mediante electrodo selectivo.

3.5. TOMA DE MUESTRAS MICROBIOLÓGICAS Y ANÁLISIS

La toma de muestras microbiológicas (hemocultivos, exudados y otras procedencias) y su posterior análisis se realizaron siguiendo los protocolos establecidos en el Servicio de Microbiología del HUMV.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico fue realizado con el programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 19.0 para Windows.

Las variables categóricas se expresaron en frecuencias y en porcentajes. Para la comparación de variables categóricas fue utilizado el test de Chi cuadrado o el test exacto de Fisher

Se ha utilizado el test de Kolmogorov-Smirnov para la evaluación de la normalidad de las variables cuantitativas.

Las variables cuantitativas se expresaron como mediana y rango intercuartílico. Para la comparación de variables cuantitativas fue utilizado el test de Mann-Whitney o el test de Kruskal-Wallis.

Para comprobar la relación entre variables cuantitativas se utilizaron los coeficientes de correlación de Spearman

Para evaluar la asociación de la VDBP y la mortalidad se ha utilizado un modelo de regresión logística, usando como covariables la edad, el sexo, las puntuaciones APACHE y SOFA, la presencia de comorbilidades e inmunosupresión, la 25(OH) D, la 1,25(OH)₂ D, la catelicidina, la β -2-defensina y la albúmina. Los datos obtenidos se expresaron en odds-ratio (OR) con intervalo de confianza (IC) al 95%.

Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

3.7. BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

La búsqueda bibliográfica se realizó mediante la búsqueda de las palabras clave: sepsis, 25(OH) D, VDBP, cathelicidin, β -2-defensin, mortality, de manera agrupada o aislada, en las siguientes bases de datos *PubMed*, *UpToDate*, *Clinical Key*, *ScienceDirect*, y *Web of Science*.

4. RESULTADOS

4.1. POBLACIÓN INCLUIDA EN EL ESTUDIO

En este estudio, se incluyeron un total de 75 pacientes diagnosticados de sepsis grave y/o shock séptico al ingreso en UCI, de los cuales 53 (70.7%) fueron hombres y 22 (29.3%) mujeres, con una mediana de edad de 64 años (Tabla 4.1).

La mayoría de los pacientes procedían del Servicio de Urgencias (48.7%). El resto de procedencias se pueden ver en la tabla 4.1.

La mediana de la puntuación de la escala APACHE II y SOFA el día de admisión en la UCI fue de 22 y 10, respectivamente. Los no supervivientes presentaron puntuaciones significativamente más elevadas y mayor número de disfunciones orgánicas que los supervivientes.

Los no supervivientes presentaron significativamente mayores casos de comorbilidad e inmunosupresión ($p < 0,001$ y $p = 0,04$, respectivamente).

La estancia en UCI fue de 4.9 días y la estancia hospitalaria de 13.9 días, no habiendo diferencias significativas entre supervivientes y no supervivientes.

La mortalidad en UCI fue del 24% y la mortalidad hospitalaria del 28%.

La principal causa de infección fue de origen pulmonar, con un 40.5% de los casos. El 79.5% de las infecciones fueron causadas por bacterias grampositivas y el 20.5% por gramnegativas. El 39.2% de los pacientes presentaban infección de origen nosocomial y el 31.1% bacteriemia (Tabla 4.2).

No hay diferencias significativas entre supervivientes y no supervivientes con respecto a la presencia de infección nosocomial y/o bacteriemia (Tabla 4.2).

	Población total (n = 75)	Supervivientes (n = 54)	No supervivientes (n = 21)	p
Edad (años)	64 (49-74)	65 (48,7-70)	67 (59,3-76,0)	0,06
Sexo				
Masculino	53 (70,7)	37 (68,5)	16 (76,2)	0,58
Femenino	22 (29,3)	17 (31,5)	5 (23,8)	0,51
Procedencia				
Urgencias	37 (48,7)			
Planta médica	12 (15,8)			
Planta quirúrgica	6 (7,9)			
Quirófano	11 (14,5)			
UCI	1 (1,3)			
Otros hospitales	8 (10,5)			
Charlson score	4 (2-6,6)	3,9 (1,1-6,4)	5,6 (3,4-7,2)	0,28
APACHE II	22 (15-28)	19,5 (14-25,2)	25 (22-30)	<0.001
SOFA	10 (6-14)	9 (7-12)	14 (10-17,5)	<0.001
Nº de disfunciones orgánicas	3 (2-4)	2 (1-3,2)	4 (3-5)	<0.001
Comorbilidad	53 (70,7)	38 (70,3%)	15 (71,4%)	<0.001
Immunosupresión	25 (33,3%)	14 (25,9%)	11 (52,4%)	0,04
Estancia en UCI (días)	4,9 (2,9-9,9)	5,5 (2,9-10,5)	4,9 (1,9-9,9)	0,45
Estancia hospitalaria (días)	13,9 (8,9-20,9)	15,5 (10,7-23,9)	6,9 (2,2-14,7)	0,006
Mortalidad en UCI	18 (24)			
Mortalidad hospitalaria	21 (28)			

APACHE II Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II.

Tabla 4.1. Características demográficas y clínicas al ingreso en la UCI. Los datos se expresan como frecuencia (porcentaje) o como mediana (rango intercuartílico).

	Población total (n= 75)	Supervivientes (n = 54)	No supervivientes (n = 21)	p
Sitio primario de infección				
Pulmón	31 (41,3)			
Abdomen	24 (32)			
Tracto urinario	9 (12)			
Piel y tejidos blandos	5 (6,7)			
Catéter	3(4)			
Otros	3 (4)			
Infección nosocomial	45 (60)	33 (61,1)	12 (57,1)	0,79
Bacteriemia	23 (30,7)	15 (27,8)	8 (38,1)	0,41

Tabla 4.2. Sitio primario de infección, infección nosocomial y bacteriemia. Los resultados se expresan como frecuencia (porcentaje)

4.2. PREVALENCIA DE DEFICIENCIA DE VITAMINA D EN PACIENTES CRÍTICOS SÉPTICOS

En la tabla 4.3 se muestran los valores de los parámetros bioquímicos al ingreso en UCI.

De los 75 pacientes estudiados, la mediana de los valores séricos de 25(OH) D al ingreso en UCI fue de 9,0 ng/mL (5,0 – 15,0) (Gráfico 4.1, Tabla 4.3).

62 pacientes (82,8%) presentaron déficit de vitamina D, 11 (14,6%) niveles insuficientes de vitamina D y solamente 2 (2,6%) presentaron niveles suficientes de vitamina D (Tabla 4.2.1). Se han utilizado los puntos de corte para definir el estatus nutricional de la vitamina D según las recomendaciones de la *Endocrine Society* (Tabla 4.4).

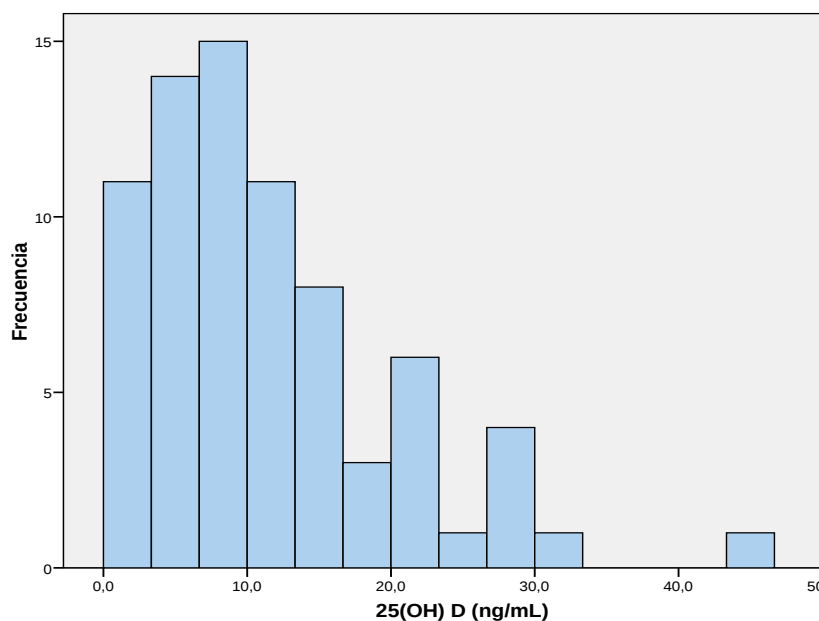


Gráfico 4.1. Histograma de los niveles de 25(OH) D al ingreso en UCI

Estatus 25(OH) D (ng/mL), n (%)	Población total (n=75)
Suficiencia (> 30)	2 (2,6)
Insuficiencia (15-29.9)	11 (14,6)
Deficiencia (<15)	62 (82,8)

Tabla 4.4. Estatus de la vitamina D al ingreso en UCI. Los datos se expresan como frecuencia (porcentaje).

	Población total (n = 75)	Supervivientes (n = 54)	No supervivientes (n = 21)	p
Parámetros bioquímicos				
Leucocitos (x10 ³ /μL)	11,4 (6,5-18,2)	11,3 (5,2-20,5)	11,2 (6,6-16,2)	0,84
Hemoglobina (g/dL)	11,9 (9,5-14,2)	11,9 (9,9-14,3)	12,1 (9,7-14,1)	0,97
Plaquetas (x10 ³ /μL)	162 (95-232)	169 (119-250)	109 (49-191)	0,016
Tasa de protrombina (%)	64 (50-81)	72 (55-87)	47 (35-72)	0,003
pH	7,34 (7,25-7,37)	7,34 (7,29-7,38)	7,25 (7,21-7,37)	0,049
SvcO ₂	73 (61 -79)	73 (62-79)	74 (60-78)	0,92
Glucosa (mg/dL)	122 (96-157)	126 (107-167)	97 (76-140)	0,029
Urea (mg/dL)	75 (49-132)	68 (47 -151)	99 (74-133)	0,06
Creatinina (mg/dL)	1,85 (0,94-3,30)	1,99 (0,88-3,44)	1,60 (0,97-2,82)	0,78
Sodio (mmol/L)	138 (136-141)	138 (135-141)	139 (136-142)	0,65
Potasio (mmol/L)	4,3 (3,6-5,0)	4,2 (3,6-5,0)	4,7 (3,7-5,5)	0,15
Bilirrubina total (mg/dL)	0,9 (0,6-2,0)	0,8 (0,5-1,1)	1,70 (0,9-4,5)	0,001
Calcio (mg/dL)	7,8 (7,4-8,2)	7,9 (7,5-8,2)	7,6 (7,0-8,3)	0,43
Albúmina (mg/dL)	2,6 (2,2-3,0)	2,7 (2,2-3,0)	2,4 (1,9-3,0)	0,024
Fósforo (mg/dL)	3,7 (3,0-4,9)	3,5 (2,6-4,5)	4,5 (3,7-6,0)	0,004
PTH (pg/mL)	69 (39-186)	76 (38-190)	69 (48-173)	0,98
Lactato (mg/dL)	24 (11-42)	20 (9-32)	42 (24-77)	<0.001
PCT (ng/mL)	11,88 (1,55-40,65)	11,39 (1,26-54,75)	12,98 (3,77-24,75)	0,67
PCR (mg/mL)	23 (11-25)	23 (11-25)	21 (8-25)	0,93
25(OH) D (ng/mL)	9,0 (5,0-15,0)	9,2 (5,0-15,2)	8,8 (4,9-15,0)	0,61
1,25(OH) ₂ D (pg/mL)	21 (12-34)	24 (14-40)	18 (12-30)	0,12
VDBP (pg/mL)	144,2 (92,2-187,8)	155,1 (139,6-196,1)	97,2 (68,2-147,7)	<0.001
Catelicidina (ng/mL)	1,3 (0,8-2,0)	1,3 (0,8-2,1)	0,9 (0,4-1,7)	0,086
β-2-defensina (pg/mL)	464 (222-1193)	482 (217-1213)	430 (251-1895)	0,67

Tabla 4.3. Parámetros bioquímicos generales y específicos al ingreso en UCI, expresados como mediana (rango intercuartílico)

No se observa asociación entre la estancia en UCI y los niveles séricos de 25(OH) D ($p=0,20$) ni con el estatus de la vitamina D ($p=0,88$). Ni tampoco con respecto a la estancia hospitalaria ($p=43$, $p=0.37$, respectivamente).

La presencia de bacteriemia e infección comunitaria no está significativamente asociada a los niveles de 25(OH) D ($p=0.24$, $p=0.38$, respectivamente).

4.3. INFLUENCIA DE LA ESTACIONALIDAD SOBRE LOS NIVELES SÉRICOS DE 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, CATELICIDINA, B-2-DEFENSINA Y VDBP

En la tabla 4.5 se muestran el número de pacientes críticos ingresados en UCI con diagnóstico de sepsis y/o shock séptico según la estación del año.

Según estación, n (%)	
Invierno	25 (33,3)
Primavera	27 (36,0)
Verano	19 (25,3)
Otoño	4 (5,4)

Tabla 4.5. Pacientes críticos ingresados en UCI con sepsis/shock séptico según la estacionalidad. Los datos se expresan como frecuencia (porcentaje).

En la tabla 4.6 se muestran los valores de la 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β -2-defensina, según la estación del año.

	Estación del año			
	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
25(OH) D (ng/mL)	8,3 (5,2-11,6)	17,1 (6,9-25,8)	22,1 (19,2-27,8)	7,9 (4,0-11,0)
1,25 (OH) ₂ D (pg/mL)	23 (15-36)	25 (16-38)	18 (13-38)	16 (11-38)
VDBP (pg/mL)	150,8 (104,9-201,1)	136,3 (85,4-186,6)	113,2 (72,5-156,1)	139,6 (120,3-184,8)
Catelicidina (ng/mL)	1,6 (1,2-2,3)	1,5 (1,0-2,6)	1,4 (0,8-1,7)	0,8 (0,5-1,2)
β -2-defensina(pg/mL)	481 (269-13656)	245 (146-570)	286 (224-1933)	710 (270-2372)

Tabla 4.6. Niveles de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β -2-defensina, según la estacionalidad, expresados como mediana (rango intercuartílico)

Se compararon globalmente los niveles de 25(OH) D según la estación del año en la que ingresó el paciente, durante los dos años que duró el estudio, encontrándose

diferencias estadísticamente significativas entre las distintas estaciones ($p=0,001$). También se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los niveles de catelicidina ($p=0,001$) según la estación del año.

En las comparaciones trimestre a trimestre, se observa que los valores de 25(OH) D en primavera son significativamente menores que los valores en verano y el otoño ($p=0,014$ y $p<0,001$, respectivamente), que los valores en invierno son significativamente menores que los del verano y el otoño ($p=0,006$ y $p=0,004$, respectivamente). No se observan diferencias estadísticamente significativas entre la primavera y el invierno ($p=0,37$) y el verano y el otoño ($p=0,21$) (Gráfico 4.2).

En las comparaciones trimestre a trimestre, se observan niveles de catelicidina en primavera son significativamente mayores que los valores obtenidos en invierno ($p<0,001$). No se observan diferencias estadísticamente significativas entre la primavera y el verano ($p=0,78$), la primavera y el otoño ($p=0,36$), el verano y el otoño ($p=0,69$), el verano y el invierno ($p=0,05$) y el otoño y el invierno ($p=0,11$).

Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los niveles de $1,25(\text{OH})_2 \text{ D}$ ($p=0,056$), para los niveles de VDBP ($p=0,69$), ni para los niveles de niveles de β -2-defensina ($p=0,093$) según la estación del año.

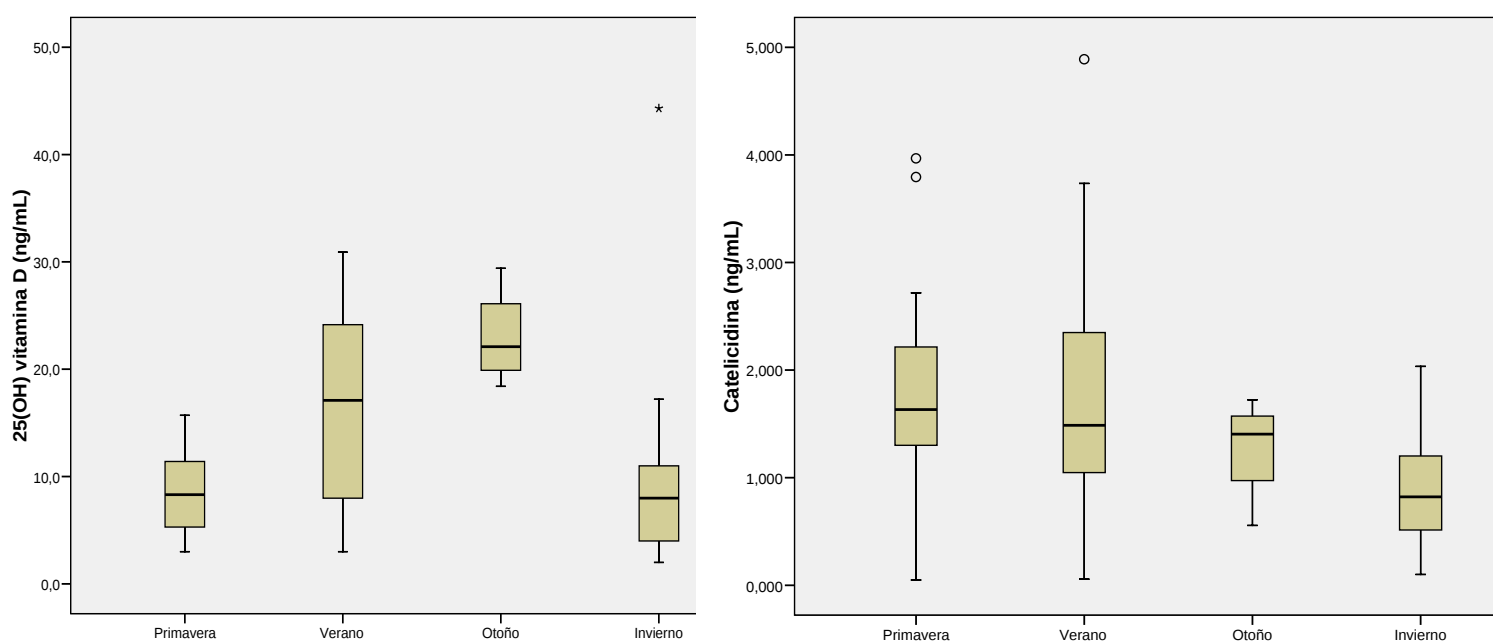


Gráfico 4.2. Diagrama de caja de los niveles de 25(OH) D y catelicidina según la estacionalidad del año

4.4. INFLUENCIA DE LA EDAD SOBRE LOS NIVELES SÉRICOS DE 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, CATELICIDINA, B-2-DEFENSINA Y VDBP

En el estudio de correlación, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de 25(OH) D ($r=0,18$, $p=0,18$), 1,25(OH)₂ D ($r=0,03$, $p=0,80$), VDBP ($r=-0,11$, $p=0,36$), catelicidina ($r=0,05$, $p=0,67$) y β -2-defensina ($r=-0,12$, $p=0,31$) según la edad.

4.5. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, CATELICIDINA, B-2-DEFENSINA Y VDBP . CORRELACIONES CON PARÁMETROS DE INFLAMACIÓN

Los niveles de 25(OH) D en sangre se correlacionan positivamente con los niveles de 1,25(OH)₂ D ($r=0,312$, $p=0,006$) y los de β -2-defensina ($r=0,297$, $p=0,01$). Los niveles séricos de VDBP se correlacionan positivamente con los de 1,25(OH)₂ D ($r=0,369$, $p=0,001$).

En el estudio de correlación de los niveles de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, catelicidina, β -2-defensina y VDBP con parámetros de inflamación (leucocitos, PCR y procalcitonina), se correlaciona positivamente la catelicidina y los leucocitos ($r=0,260$, $p=0,026$), la procalcitonina se correlaciona positivamente con la PCR ($r=0,245$, $p=0,037$) y negativamente con los leucocitos ($r=-0,262$, $p=0,025$). No se encontraron correlaciones significativas de los parámetros específicos analizados del metabolismo de la vitamina D con los parámetros inflamatorios clásicos.

En el estudio de correlación de los niveles de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, catelicidina, β -2-defensina y VDBP con aquellos parámetros bioquímicos generales, que han sido significativamente diferentes entre supervivientes y no supervivientes, se encontró que el lactato se correlaciona positivamente con la β -2-defensina ($r=0,280$, $p=0,018$) y negativamente con 1,25 (OH)₂ D ($r=-0,285$, $p=0,016$), con la VDBP ($r=-0,486$, $p<0,001$) y la catelicidina ($r=-0,486$, $p<0,001$), que la bilirrubina se correlaciona negativamente con la VDBP ($r=-0,332$, $p=0,004$) y con la catelicidina ($r=-0,267$, $p=0,024$), las plaquetas se correlacionan positivamente con la catelicidina ($r=0,281$, $p=0,017$), el fósforo se correlaciona negativamente con 1,25 (OH)₂ D ($r=0,238$, $p=0,040$) y la albúmina se correlaciona positivamente con la 1,25 (OH)₂ D ($r=0,552$, $p<0,001$) y con la VDBP ($r=0,562$, $p<0,001$).

4.6. ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS ANALIZADOS EN RELACIÓN CON EL PRONÓSTICO / MORTALIDAD

En la tabla 4.3 se muestran los valores de los parámetros bioquímicos al ingreso en UCI, en relación con el pronóstico/mortalidad.

Cuando se compararon los niveles séricos de 25(OH) D, 1,25(OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β-2-defensina entre el grupo de supervivientes y no supervivientes, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para 25(OH) D (p=0.61), la 1,25(OH)₂ D (p=0.11), la catelicidina (p=0.086), y β-2-defensina (p=0.67).

Tampoco se han encontrado diferencias significativas entre supervivientes y no supervivientes con respecto al estado nutricional de la vitamina D (p=0.588).

Sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre supervivientes y no supervivientes en los niveles de VDBP (p<0.001) (Tabla 4.3, Gráfico 4.3).

En el modelo de regresión logística, la VDBP está significativamente asociada al riesgo de mortalidad hospitalaria. Esta asociación es independiente de la edad, el sexo, de las puntuaciones APACHE y SOFA, de la presencia de comorbilidades e inmunosupresión, de la 25(OH) D, de la 1,25(OH)₂ D, de la catelicidina, de la β-2-defensina y de la albúmina (OR 8,74, IC 95%=1,18-65,01, p=0,034) (Tabla 4.7).

	OR	IC 95%	p
Edad	1,05	1,00-1,11	0,07
Sexo	0,75	0,14-4,01	0,74
APACHE II	1,03	0,93-1,13	0,60
SOFA 2	1,05	0,97-1,13	0,23
Inmunosupresión	0,08	0,01-0,53	0,051
Comorbilidad	0,38	0,07-2,20	0,28
VDBP	8,74	1,18-65,01	0,034
25(OH) D	2,26	0,44-11,60	0,33
1,25(OH) ₂ D	1,75	0,39-7,98	0,47
Catelicidina	1,85	0,40-8,61	0,43
β-2-defensina	1,47	0,31-7,01	0,63
Albúmina	1,44	0,31-6,66	0,64

Tabla 4.7. Regresión logística para mortalidad en pacientes sépticos

Cuando se compararon los niveles séricos del resto de parámetros bioquímicos entre el grupo de supervivientes y no supervivientes, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas para leucocitos ($p=0.838$), hemoglobina ($p=0.965$), SvcO_2 ($p=0.92$), urea ($p=0.060$), creatinina ($p=0.78$), sodio ($p=0.65$), potasio ($p=0.15$), calcio ($p=0.43$), PTH ($p=0.97$), PCT ($p=0.67$) y PCR ($p=0.93$). Sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los niveles de plaquetas ($p=0.016$), tasa de protrombina ($p=0.003$), pH ($p=0.049$), glucosa ($p=0.029$), bilirrubina total ($p=0.001$), albúmina ($p=0.024$), fósforo ($p=0.004$) y lactato ($p<0.001$) (Tabla 4.3.).

5. DISCUSIÓN

En nuestro estudio prospectivo observacional en pacientes críticos adultos con sepsis/shock séptico, hemos encontrado que la prevalencia de deficiencia de vitamina D es elevada, según las recomendaciones de la *Endocrine Society* y excede el 60%, siendo similar a los porcentajes hallados en diferentes estudios en pacientes críticos sépticos (95, 103, 104).

Además, no existe asociación entre la estancia en UCI u hospitalaria y niveles deficientes de vitamina D, resultados coincidentes con los obtenidos por Amrein et al. (95).

En nuestro estudio, la presencia de bacteriemia no está asociada a un incremento de mortalidad. Estos datos también coinciden con los obtenidos por Ala-Kokko et al. (104), estudio prospectivo observacional multicéntrico ($n=610$, $p>0,9$). La bacteriemia tampoco está asociada a los niveles séricos de 25(OH) D, ni globalmente ni según el estatus de la vitamina D. Este hecho podría ser debido al pequeño tamaño muestral, ya que Braun et al. (89) hallaron, en un estudio observacional, un elevado porcentaje de bacteriemia en pacientes con niveles deficientes de 25(OH) D (<15 ng/mL) ($n=1160$), siendo la OR igual a 1,64 (IC 95% 1,05-2,55, $p=0.03$).

Los datos muestran que los niveles de 25(OH) D exhiben una fuerte variación estacional en pacientes sépticos, corroborando los datos obtenidos por Amrein et al., estudio observacional retrospectivo (95), y por Ratzinger et al., estudio de cohortes prospectivo (100), únicos dos estudios que valoran hasta la fecha, la influencia de la estacionalidad en pacientes críticos sépticos.

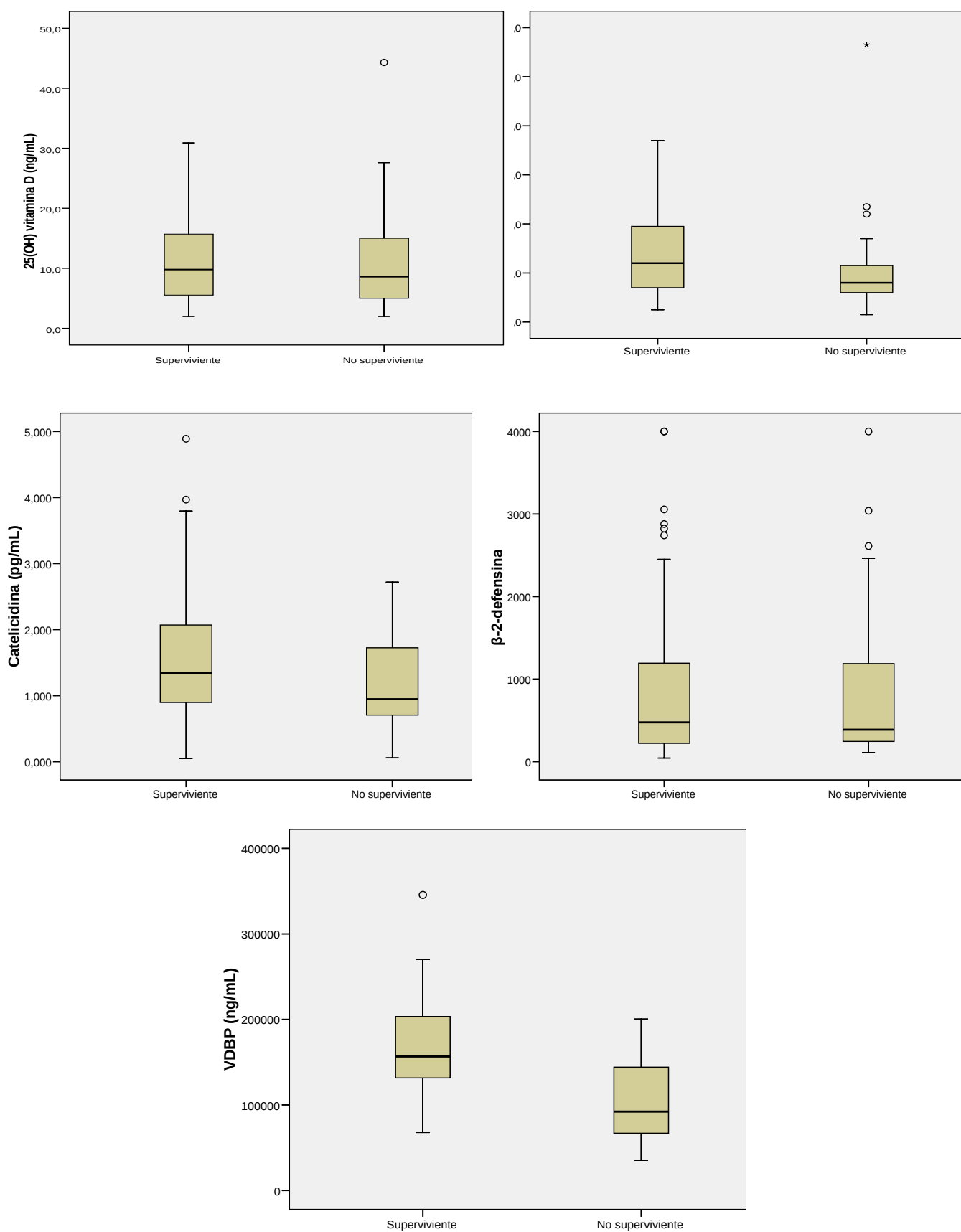


Gráfico 4.3. Diagrama en caja de los niveles de 25(OH) D, 1,25(OH)₂, catelicidina y β-2-defensina según el pronóstico/mortalidad.

Por lo que la variación estacional no sólo afecta a individuos sanos sino también a pacientes críticos, en los que cabría pensar que debido a su patología la producción endógena de vitamina D estaría notablemente disminuida. Encontrándose que los valores mínimos de vitamina D son en invierno, cuando la irradiación solar es mínima y los máximos son en otoño, posteriores a que la irradiación solar es máxima en verano. La prevalencia de pacientes sépticos es mayor en invierno, lo que podría estar relacionado con la estacionalidad de la vitamina D o con la variación estacional que sufren las infecciones del tracto respiratorio, cuyo pico de incidencia es máximo en invierno.

La catelicidina exhibe de manera global una leve variación estacional, aunque cuando se compara trimestre a trimestre, sólo es significativa entre la primavera y el invierno, no siguiendo el patrón de estacionalidad de la 25(OH) D, bien por el pequeño tamaño muestral del estudio o porque la síntesis de catelicidina es compleja y depende de diversos estímulos inmunes. En la bibliografía consultada, no se han encontrado estudios que valoren la influencia de la estacionalidad en los niveles séricos de catelicidina en pacientes críticos.

Nuestros datos muestran que tampoco hay asociación significativa entre los niveles de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β -2-defensina con la edad.

También muestran que no hay asociación significativa entre los niveles de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, VDBP y β -2-defensina con diferentes parámetros de inflamación. Sólo la catelicidina muestra asociación significativa con el recuento de leucocitos. Este hallazgo puede ser atribuible a que la catelicidina es producida mayoritariamente en los leucocitos, siendo los neutrófilos su principal fuente.

En el estudio de correlación realizado entre los niveles de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, VDBP, catelicidina y β -2-defensina con aquellos parámetros bioquímicos generales que han sido significativamente diferentes entre supervivientes y no supervivientes, se ha encontrado una asociación significativa positiva esperada entre la albúmina y la 1,25 (OH)₂ D y la VDBP, ya que tanto la VDBP y la albúmina actúan como proteínas transportadoras de la 1,25 (OH)₂ D.

El lactato, parámetro de perfusión tisular, muestra una asociación significativa positiva con la β -2-defensina y negativa con la 1,25 (OH)₂ D y la VDBP. El lactato es un marcador de hipoxia tisular que se utiliza como indicador de severidad y pronóstico en el contexto de sepsis/shock séptico. Recientes estudios sugieren que la activación de las células inmunes dependería del metabolismo de la glucólisis aeróbica y el lactato producido en dicha glucólisis aeróbica, por sí mismo, podría tener un papel

inmunosupresor en la sepsis (109). Este posible papel inmunosupresor del lactato podría explicar la asociación del mismo con la β -2-defensina, la $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}$ y la VDBP. Se requieren más estudios que esclarezcan estos hallazgos.

La bilirrubina, parámetro de disfunción orgánica, muestra una asociación significativa negativa con la VDBP y la catelicidina. La bilirrubina formada en los macrófagos, en los cuales es producida la catelicidina, es transportada unida a la albúmina hasta el hígado, principal tejido productor de VDBP, donde es captada por las células del parénquima hepático y donde sufre el proceso de conjugación. La catelicidina es producida por las células inmunes innatas para destruir patógenos, que son finalmente depurados en el hígado. La sepsis causa daño hepático, provocando un aumento de bilirrubina sérica y una disminución de síntesis de proteínas hepáticas, incluida la VDBP. En la sepsis, el hígado tiene un papel muy importante en la depuración de los patógenos y lidera la respuesta inflamatoria, produciendo citoquinas inflamatorias (IL-6 y $\text{TNF-}\alpha$) y óxido nítrico. Pero es que además, el hígado también libera mediadores anti-inflamatorios, como la IL-10 , para regular la respuesta inmune sistémica y proteger a otros órganos (110). El hígado parece tener un papel fundamental en la homeostasis metabólica e inmunológica en la sepsis y podría actuar como mediador en estas asociaciones. Se requieren más estudios que esclarezcan estos hallazgos.

Las plaquetas, otro parámetro de disfunción orgánica, se asocian positivamente con la catelicidina. No se conoce, hasta la fecha, que las plaquetas expresen receptores de la vitamina D y, por tanto, puedan inducir la síntesis de catelicidina (111). Una posible explicación de esta asociación, es que los niveles de ambos parámetros dependan de citoquinas y otros mecanismos relacionados con el sistema inmune y la médula ósea durante la sepsis. Se requieren más estudios que esclarezcan estos hallazgos.

En nuestro análisis encontramos además que el 60% de los pacientes sépticos presentan valores de $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}$ por debajo de la normalidad y el 65,3% presentan niveles elevados de PTH, presuponemos de manera secundaria al déficit de 25(OH) D y daño funcional renal secundario a la sepsis. En el estudio de Greulich et al (88) analizaron también de manera similar, los niveles de PTH en relación al metabolismo de la vitamina D encontrando como era de esperar niveles elevados de PTH. De manera original Greulich et al., encontraron diferencias significativas entre pacientes críticos sépticos y no sépticos (donde no se elevaban los niveles de PTH). Aunque nuestros pacientes presentan valores elevados de PTH, no hemos analizado diferencias entre sépticos y no sépticos, ya que no era un objetivo del trabajo; sin embargo el hallazgo original de Greulich et al., nos parece interesante en el análisis

del contexto de la relación entre infección y metabolismo de la vitamina D. En nuestro estudio no encontramos diferencias en los niveles de PTH según el pronóstico en los pacientes sépticos, lo que en principio nos hace pensar que valores elevados de PTH no se encuentran asociados a un incremento de la mortalidad.

Estudios retrospectivos recientes y dos metaanálisis recientes sugieren que niveles bajos de vitamina D estarían asociados con un incremento de mortalidad en pacientes críticos sépticos (95-98).

En nuestro estudio encontramos niveles bajos 25(OH) D, 1,25 (OH)₂, catelicidina y β-2-defensina en pacientes críticos adultos con sepsis/shock séptico, medidos el primer día de admisión en UCI, pero no encontramos diferencias entre supervivientes y no supervivientes y por tanto una falta de asociación con la mortalidad.

Nuestros datos sobre la 25(OH) D son similares con recientes estudios prospectivos, como el de Barnett et al., estudio de casos-control con 478 pacientes (102), Aygencel et al., estudio observacional con 201 pacientes críticos (101), Cecchi et al., estudio de cohortes con 170 pacientes críticos con sepsis (103), Ala-Kokko et al., estudio observacional con 610 pacientes con sepsis severa o shock séptico (104) y el de Ratzinger et al., estudio de cohortes de 461 pacientes críticos sépticos (100). Estos estudios examinaron si existía asociación entre los niveles de 25(OH) D y mortalidad, encontrando deficiencia pero no diferencias en los niveles de 25(OH) D entre supervivientes y no supervivientes.

El papel de la vitamina D en la sepsis es contradictorio y no se ha podido demostrar la causalidad entre la deficiencia de la vitamina D y la mortalidad en pacientes sépticos.

Además, se ha de tener en cuenta, la heterogeneidad en las definiciones de sepsis, en las definiciones de normalidad de vitamina D y las diferencias metodológicas, dificultan la comparación entre los estudios.

Con respecto a la catelicidina, Jeng et al., estudio de casos-control, hallaron niveles más bajos de catelicidina en pacientes críticos (n=49) comparado con controles sanos (n=21) y asociación positiva entre los niveles de catelicidina y los de 25(OH) D (84), Barbeiro et al, estudio de cohortes prospectivo, no hallaron diferencias significativas entre los niveles de catelicidina entre pacientes críticos con y sin sepsis (n=130) ni asociación entre los niveles de catelicidina y 25(OH) D (105). Mientras que, Greulich et al., estudio de cohortes prospectivo, encontraron niveles elevados de catelicidina, en pacientes críticos sépticos (n=32) comparado con pacientes críticos no sépticos (n=16) y con controles sanos (n=16), y que los niveles de catelicidina

presentaban una asociación negativa con los niveles de 25(OH) D (88). Leaf et al., estudio de cohortes prospectivo (n=121), evidenciaron que niveles bajos de 25(OH) D al ingreso en UCI estaban asociados a niveles bajos de catelicidina y que ambos estaban asociados a un mayor riesgo de mortalidad a 90 días (106).

En nuestro estudio no hemos encontrado asociación entre los niveles de catelicidina y los niveles de 25(OH) D. Estos hallazgos sólo son respaldados por los hallados por Barbeiro et al. Tampoco hemos hallado que los niveles de catelicidina estén asociados a un mayor riesgo de mortalidad, al contrario de lo encontrado por Leaf et al. Se ha de tener en cuenta, que la catelicidina es un parámetro nuevo y que su determinación es metodológicamente muy variable y no estandarizada.

Con respecto a la β -2-defensina, no se han encontrado estudios que valoren los niveles de β -2-defensina ni en pacientes críticos ni sépticos. En nuestro estudio, hemos hallado una asociación positiva entre los niveles de β -2-defensina y los niveles de 25(OH) D, pero no asociación con el pronóstico/mortalidad. Nuestros datos concuerdan con la idea que la estimulación de la β -2-defensina mediada por la vitamina D es moderada y que niveles bajos β -2-defensina podrían predisponer a la infección pero no a un incremento de la mortalidad. Al igual que la catelicidina, se trata de un parámetro nuevo no estandarizado, por lo que se requieren más estudios que corroboren estos hallazgos.

Por último, sí hemos encontrado diferencias significativas entre supervivientes y no supervivientes para los niveles de VDBP, independientemente de los valores de vitamina D, catelicidina, β -2-defensina y albúmina, por lo que niveles altos de VDBP parecen ser protectores. La VDBP transporta a la vitamina D, pero además, tiene función antiinflamatoria e inmunomoduladora, protege al complemento C5a de su degradación, contribuye a la activación de los macrófagos y a la quimiotaxis de los neutrófilos, y actúa como depurador (*"scavenger"*) de la actina liberada en las células necróticas (34, 35).

Nuestros datos son comparables con los obtenidos por Dahl et al., que hallaron que niveles bajos de VDBP estaban asociados con un mayor riesgo de fallo respiratorio y de desarrollo de sepsis (108) y con los de Jeng et al., que hallaron niveles más bajos de VDBP en pacientes críticos (n=49) comparado con controles sanos (n=21) (84). Mientras que Leaf et al., no encontraron diferencias significativas en los niveles de VDBP entre supervivientes y no supervivientes (106).

Nuestro estudio presenta **algunas limitaciones**:

- Estudio realizado en un único centro con un número pequeño de participantes, todos ellos de origen caucásico, por lo que nuestros resultados no pueden ser generalizables.
- No conocemos los valores séricos de vitamina D previos al ingreso de los pacientes en la UCI, por lo que desconocemos si la deficiencia de vitamina D ya estaba presente antes del ingreso en UCI o si fue debida al desencadenamiento de la sepsis.
- No se realizó seguimiento de los parámetros analizados de manera específica a lo largo del proceso, no conociendo el estado final de la vitamina D en los supervivientes en relación con los no supervivientes.
- No se han evaluado los polimorfismos de la VDBP, que afectan a la función de la proteína y a su capacidad de unión a la vitamina D (36,37), lo que repercutiría en la biodisponibilidad de la vitamina D.

6. CONCLUSIONES

Las conclusiones de este estudio son las siguientes:

- La prevalencia de deficiencia de vitamina D en pacientes críticos adultos con sepsis/shock séptico es elevada.
- En nuestros pacientes, los niveles séricos de 25(OH) D presentan una elevada variación estacional.
- Los niveles de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, catelicidina y β -2-defensina no están influenciados por la edad.
- En la correlación con parámetros de inflamación (leucocitos, proteína C reactiva y procalcitonina), solamente se evidencia una asociación significativa entre los niveles de catelicidina y el recuento de leucocitos.
- Los niveles bajos de 25(OH) D, 1,25 (OH)₂ D, catelicidina y β -2-defensina no se asocian a un incremento de la mortalidad en nuestros pacientes.
- Los niveles bajos de VDBP sí se asocian de manera significativa con el riesgo de mortalidad, de tal manera, que niveles altos de VDBP parecen ser protectores.

Se requiere un consenso en la definición de sepsis y de los puntos de corte para evaluar el estado nutricional de la vitamina D, que permitan la comparación entre estudios y estudios metabolómicos, transcriptómicos y epigenéticos que permitan investigar si la deficiencia de vitamina D es un factor independiente que contribuye a la mortalidad en pacientes críticos adultos con sepsis/shock séptico, así como para investigar si los niveles de VDBP son un factor de riesgo independiente de mortalidad.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Castro Rebollo P, Nicolás Arfelis JM. Sepsis, sepsis grave y shock séptico. En: Rozman Borstnar C, Cardellach López, coordinadores. Farreras Rozman. Medicina Interna. 18ª ed. Madrid: Elsevier; 2016. p. 2397-402.
2. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med 1992; 20:864-74.
3. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med 2003; 34:1546-54.
4. 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.
5. Neviere R. Sepsis syndromes in adults: Epidemiology, definitions, clinical presentation, diagnosis, and prognosis. [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2017 [acceso 27 de mayo de 2017]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
6. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. Lancet 2005; 365: 63-78.
7. Munford RS, Suffredini AF. Sepsis, sepsis grave y shock séptico. En: Bennett JF, Dolin R, Blaser MJ, coordinadores. Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. 8ª ed. Madrid: Elsevier; 2016. p. 949-71.
8. Neviere R. Pathophysiology of sepsis. [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2017 [acceso 27 de mayo de 2017]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
9. Frantz S, Ertl G, Bauersachs J. Mechanisms of disease: Toll-like receptors in cardiovascular disease. Nat Clin Pract Cardiovas Med 2007; 8: 444-54.

10. Aubry A, Vieillard-Baron A. Sepsis, shock séptico en el adulto. Tratado de medicina, 2016; 20(3): 1-6.
11. 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. Crit Care Med 2004; 32(3): 858-73.
12. 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. Crit Care Med 2008; 36(1): 296-327.
13. 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 2012, 39(2): 580-637.
14. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for Management Guidelines of Sepsis and Septic Shock: 2016. Crit Care Med 2017; 45(3): 486-552.
15. Holick M.F. Vitamin D deficiency. N Engl. J Med. 2007; 357: 266–81.
16. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: A genome-wide association study. Lancet. 2010; 376: 180–8.
17. Yousefzadeh P, Shapses SA, Wang W. Vitamin D binding protein impact on 25-hydroxivitamin D levels under different physiologic and pathologic conditions. Int J Endocrinol 2014; 2014: 981581.
18. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P-450-mediated metabolism of vitamin D. J Lipid Res. 2014; 55: 13-31.
19. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. J Clin Endocrinol Metab. 2010; 95: 471-8.
20. Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. J Clin Invest 2008; 4: 80-90.
21. Jones G. Extrarenal Vitamin D activation and interactions between Vitamin D₂, Vitamin D₃, and Vitamin D analogs. Annu Rev Nutr 2013; 33: 10.1-10.22.
22. Gombart AF. The vitamin D-antimicrobial peptide pathway and its role in protection against infection. Future Microbiol. 2009; 4(9): 1151-65.
23. Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011; 25(4): 531-41.
24. Singmundsdottir H, Pan J, Debes GF, Alt C, Habtezion A, Soler D et al. DCs metabolize sunlight-induced vitamin D₃ to “program” T cell attraction to the epidermal chemokine CCL27. Nat Immunol 2007; 8(3): 285-93.

25. Suaini NHA, Zhang Y, Vuillermin PJ, Allen KJ, Harrison LC. Immune modulation by vitamin D and its relevance to food allergy. *Nutrients* 2015; 7(8): 6088-108.
26. Ichikawa F, Sato K, Nanjo M, Nishiii Y, Shinki T, Takahashi N. Mouse primary osteoblasts express vitamin D3 25-hydroxylase mRNA and convert 1 alpha-hydroxyvitamin D3 into 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Bone* 1995; 16: 129-35.
27. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart P. 1 alpha-hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol* 2000; 25: 141-8.
28. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *AM J Clin Nutr* 2008; 88: 4915.
29. Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol-vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal* 2009; 2: re4.
30. Córdoba Chicote C, Granado Lorenzo F, coordinadores. Vitamina D: una perspectiva actual. Barcelona: Comité de Comunicación de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular; 2013.
31. Bover J, Egido J, Fernández-Giráldez E, Praga M, Solozábal-Campos C, Torregrosa JV et al. Vitamina D, receptor de la vitamina D e importancia de su activación en el paciente con enfermedad renal crónica. *Nefrología* 2015; 35(1): 28-41.
32. Hirschfeld J. Immune-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1959; 47: 160-8.
33. Daiger SP, Schanfield MS, Cavalli-Sforza LL. Group-specific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-hydroxyvitamin D. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 2076-80.
34. Yamamoto N, Homma S. Vitamin D3 binding protein (group-specific component) is a precursor for the macrophage-activating signal factor from lyso phosphatidylcholine-treated lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88: 8539-43.
35. Metcalf JP, Thompson AB, Gossman GL, Nelson KJ, Koyama S, Rennard SI et al. Gcglobulin functions as a cochemotaxin in the lower respiratory tract. A potencial mechanism for lung neutrophil recruitment in cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 844-9.
36. Davey RX. Vitamin D binding protein as it is understood in 2016: is it a critical key with which to help to solve the calcitriol conundrum?. *Ann Clin Biochem.* 2017; 54(2): 199-208.

37. Malik S, Fu L, Juras DJ, Karmali M, Wong BYL, Gozdzik A et al. Common variants of the vitamin D binding protein gene and adverse health outcomes. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2013; 50(1): 1-22.
38. Chishimba L, Thickett DR, Stockley RA, Wood AM. The vitamin D axis in the lung: a key role for vitamin D-binding protein. *Thorax* 2010; 65: 456-62.
39. Chun RF, Peercy BE, Orwoll ES, Nielson CM, Adams JS, Hewison M. Vitamin D and DBP: The free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 144: 132-37.
40. Rowling MJ, Kemmis CM, Taffany DA, Welsh J. Megalin-mediated endocytosis of vitamin D binding protein correlates with 25-hydroxycholecalciferol actions in human mammary cells. *J Nutr* 2006; 136 (11): 2754-9.
41. Lundgren S, Carling T, Hjälm G, Juhlin C, Rastad J, Pihlgren U. Tissue distribution of human gp330/megalin, a putative Ca(+2)-sensing protein. *J Histochem Cytochem* 1997; 45(3): 383-92.
42. Hoofnagle AN, Eckfeldt JH, Lutsey PL. Vitamin D-binding protein concentrations quantified by mass spectrometry. *N Eng J Med.* 2015; 373: 1480-2.
43. Nielson CM, Jones KS, Chun RF, Jacobs JM, Wang Y, Hewison M. *J Clin Metab.* 2016; 101: 2226-34.
44. Jassil NK, Sharma A, Bilke D, Wang X. Vitamin D binding protein and 25-hydroxyvitamin D levels: emerging clinical applications. *Endocr Pract.* 2017; 23(5): 605-13.
45. Yetley EA, Pfeiffer CM, Schelicher RL, Phinney KW; Lacher DA, Christakos S et al. NHANES Monitoring of serum 25-hydroxyvitamin D: A roundtable summary. *J Nutr.* 2010; 140(11): 2030S-45S.
46. De la Hunty A, Wallace AM, Gibson S, Viljakainen H, Lamberr-Allardt C, Ashwell M. UK Food Standards Agency Workshop Consensus Report: the choice of method for measuring 25-hydroxyvitamin D to estimate vitamin –d status for the UK National Diet and Nutrition Survey. *Bri J Nutr.* 2010; 104(4):612-9.
47. Wallace AM, Gibson S, de la Hunty A, Lamberg-Allardt C, Ashwell M. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: Current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids.*; 2010; 75(7):477-88.
48. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(7): 1911-30.

49. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK et al. The 2011 Report on Dietary Reference intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine. What clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(1): 53-8.
50. Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97(4): 1146-52.
51. Heaney RP, Holick MF. Why the IOM Recommendations for Vitamin D are deficient. *J Bone Miner Res*. 2011; 26(3): 455-7.
52. Rook GA, Steele J, Fraher L, Barker S, Karmali R, O'Riordan J et al. Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology* 1986; 57:159-63.
53. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 2007; 449: 819-26.
54. Adams JS, Hewison M. Unexpected actions of vitamin D: New perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008; 4: 80-90.
55. Sadegui K, Wessner B, Laggner U, Ploder M, Tamandl D, Friedl J et al. Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur J Immunol*. 2006; 36: 361-70.
56. Wang TT, Nestel FP, Bourdeay V, Nagai Y, Wang Q, Liao J et al. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*. 2004; 173: 2909-12.
57. Liu PT, Stenger S, Hi H, Wenzel L, Tan B, Krutzik SR et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-3.
58. Edfeldt K, Liu PT, Chun R, Fabri M, Schenk M, Wheelwright M et al. T-cell cytokines differentially control human monocyte antimicrobial responses by regulating vitamin D metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 22593-8.
59. Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *FASEB J* 2005; 19: 1067-77.
60. Yim S, Dhawan P, Ragunath C, Christakos S, Diamond G. Induction of cathelicidin in normal and CF bronchial epithelial cells by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *J Cyst Fibros*. 2007; 30(6): 403-10.

61. Weber G, Heilborn JD, Chamorro Jiménez CI, Hammarsjo A, Törma H, Stahle M. Vitamin D induces the antimicrobial protein hCAP 18 in human skin. *J Invest Dermatol.* 2005; 124(5): 1080-2.
62. Buchau AS, Morizane S, Trowbridge J, Schaubert J, Kotol P, Bui JD et al. The host defense peptide cathelicidin is required for NK cell-mediated suppression of tumor growth. *J Immunol* 2010; 184: 369-78.
63. Fabri M, Stenger S, Shin DM, Yuk JM, Liu PT, Realegeno S et al. Vitamin D is required for IFN- γ -mediated antimicrobial activity of human macrophages. *Sci Transl Med.* 2011; 3: 104ra102.
64. Yuk JM, Shin DM, Lee HM, Yang CS, Jin HS, Kim KK, et al. Vitamin D3 induces autophagy in human monocytes/macrophages via cathelicidin. *Cell Host Microbe.* 2009; 6: 231-43.
65. Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: Modulation of innate and autoimmunity. *J. Mol. Med. (Berl.)* 2010; 88: 441-50.
66. Lim WC, Hanauer SB, Li YC. Mechanisms of disease: Vitamin D and inflammatory bowel disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol. Hepatol.* 2005; 2: 308-15.
67. Penna G, Adorini L. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol.* 2000; 164: 2405-11.
68. Lemire JM., Archer DC, Beck L., Spiegelberg HL. Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3: Preferential inhibition of TH1 functions. *J Nutr.* 1995; 125: 1704s-08s.
69. Etten EV, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: Basic concepts. *J Steroid Biochem Mol. Biol.* 2005; 97: 93-101.
70. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol.* 2012; 76: 315-25.
71. Lemire JM, Adams JS, Kermarini-Arab V, Bakle AC, Sakai R, Jordan SC. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro. *J Immunol* 1985; 134: 3032-35.
72. Van Belle TL, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: A vital player? *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011; 25: 617-32.
73. Palmer MT, Lee YK, Maynard CL, Oliver JR, Bikle DD, Jetten AM et al. Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the development of effector CD4 T cells. *J Biol Chem.* 2011; 286: 997-1004.

74. Joshi S, Pantalena L, Liu XK, Sarah L, Liu H, Rohowsky-Kochan C et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Mol Cell Biol*. 2011; 31:3653–69.
75. Vangerwegen AS, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D endocrinology on the cross-road between immunity and metabolism. *Mol Cel Endocrinol* 2017; 453: 52-67.
76. Zhang Y, Bandala-Sánchez E, Harrison LC. Revisiting regulatory T cells in type 1 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2013; 19: 271-8.
77. Hawrylowicz CM. Regulatory T cells and IL-10 in allergic inflammation. *J Exp Med* 2005; 202: 1459-63.
78. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and Immune function. *Nutrients* 2012; 5: 2502-21.
79. Pinheiro da Silva F, Machado MC. Antimicrobial peptides: Clinical relevance and therapeutic implications. *Peptides* 2012; 36(2): 308-14.
80. Agier J, Efenberger M, Brzezinska-Blaszczyk E. Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Cent Eur J Immunol* 2015; 40(2): 225-35.
81. Vandamme D, Landuyt B, Luyten W, Schoofs L. A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide. *Cell Immunol*. 2012; 280(1): 22-35.
82. Amado CA, García-Unzueta MT, Fariñas MC, Amado JA. Calcitriol-modulated human antibiotics: New pathophysiological aspects of vitamin D. *Endocrinol Nutr*. 2016; 63(2): 87-94.
83. Bouillon R. Vitamin D and extraskeletal health. [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2017 [acceso 22 de junio de 2017]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
84. Jeng L, Yamschchikov AV, Judd SE, Blumberg HM, Martin GS, Ziegler TR et al. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis. *J Transl Med* 2009; 7: 28.
85. Lee P, Eisman JA, Center JR. Vitamin D deficiency in critically ill patients. *N Eng J Med*. 2009; 360: 1912-4.
86. Lucidarme O, Messal E, Mazzoni T, Arcade M, du Cheyron D. Incidence and risk factors of vitamin D deficiency in critically ill patients: results from a prospective observational study. *Intensive Care Med*; 36: 1609-11.
87. Parekh D, Patel JM, Scott A, Lax S, Dancer RC, D'Souza V et al. Vitamin D deficiency in human and murine sepsis. *Crit Care Med* 2017; 45(2): 282-9.

88. Greulich T, Regner W, Branscheidt M, Herr C, Koczulla AR, Volgelmeier CF et al. Altered blood level of vitamin D, cathelicidin and parathyroid hormone in patients with sepsis-a pilot study. *Anaesth Intensive Care* 2017; 45(1): 36-45.
89. Braun A, Chang D, Mahadevappa K, Gibbons FK, Liu Y. Association of low serum 25-hydroxivitamin D levels and mortality in the critically ill. *Crit Care Med.* 2011; 39(4): 671-7.
90. Venkatram S, Chilimuri S, Adrish M, Salako A, Patel M, Díaz-Fuentes G. Vitamin D deficiency is associated with mortality in the medical intensive care unit. *Crit Care* 2011; 15(6): R292.
91. Braun AB, Gibbons FK, Litonjua AA, Giovanucci E, Christopher KB. Low serum 25-hydroxivitamin D at critical care initiation is associated with increased mortality. *Crit Care Med.* 2012; 40(1): 63-72.
92. Braun AB, Litonjua AA, Moromizato T, Gibbons FK, Giovanucci E, Christopher KB. Association of low serum 25-hydroxivitamin D levels and acute kidney injury in the critically ill. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2013; 12(4): 262-72.
93. Thickett DR, Moromizato T, Litonjua AA, Amrein K, Quraishi SA, Lee-Sarwar KA et al. Association between prehospital vitamin D status and incident acute respiratory failure in critically ill patients: a retrospective cohort study. *BMJ Optrn Trdp Res* 2015; 2: e000074.
94. Moromizato T, Litonjua AA, Braun AB, Gibbons FK, Gibbons FK, Giovannucci E, Christopher KB. Association of low serum 25-hydroxivitamin D levels and sepsis in the critically ill. *Crit Care Med.* 2014; 42(1): 97-107.
95. Amrein K, Zajic P, Schnedl C, Waltensdorfer A, Fruhwald S, Holl A et al. Vitamin D status and its association with season, hospital and sepsis mortality in critical illness. *Crit Care* 2014; 18(2): R47.
96. Rech MA, Hunsaker T, Rodríguez J. Deficiency in 25-hydroxyvitamin D and 30-day mortality in patients with severa sepsis and septic shock. *Am J Crit Cate* 2014; 23(5): e72-9.
97. de Haan K, Broeneveld AB, de Geus HR, Egal M, Struijs A. Vitamin D deficiency as a risk factor for infection, sepsis and mortality in the critically ill: systematic review and meta-analysis. *Crit Care* 2014; 18(6): 660.
98. Uppala S, Sanguankeo A, Permpalung N. Significant association between vitamin D and sepsis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Anesthesiology* 2015; 15: 84.
99. Gois PHF, Ferreira D, Olenski S, Seguro AC. Vitamin D and infectious diseases. Simple bystander or contributing factor? *Nutrients* 2017; 9: 651.

100. Ratzinger F, Haslacher H, Stadlberger M, Schmidt RLJ, Obermüller M, Schmetterer KG et al. 25(OH) D and 1,25(OH) D vitamin D fails to predict sepsis and mortality in a prospective cohort study. *Scientific Reports*. 2017; 7:40646.
101. Aygencel G, Turkoglu M, Tuncel AF, Candir BA, Bildaci YD, Pasaoglu H. Is vitamin d insufficiency associated with mortality of critically ill patients?. *Crit Care Res Pract*. 2013; doi: 10.1155/2013/856747.
102. Barnett N, Zhao Z, Koyama T, Janz DR, Wang CH, May AK et al. Vitamin D deficiency and risk of acute lung injury in severe sepsis and severe trauma: a case-control study. *Ann Intensive Care* 2014; 4(1):5.
103. Cecchi A, Bonizzoli M, Douar S, Mangini M, Paladini S, Gazzini B et al. Vitamin D deficiency in septic patients at ICU admission is not a mortality predictor. *Minerva Anestesiol* 2011; 77(12): 1184-9.
104. Ala-Kokko TI, Mutt SJ, Nisula SJ, Koskenkari J, Liisanantti J, Ohtonen P et al. Vitamin D deficiency at admission is not associated with 90-day mortality in patients with severe sepsis or septic shock: Observational FINNSKI cohort study. *Ann Med*. 2016; 48: 67-75.
105. Barbeiro DF, Barbeiro HV, Zampieri FG, César MC, Torggler FF, Gomes DM et al. Cathelicidin LL-37 bloodstream surveillance is down regulated during septic shock. *Microbes Infect*. 2013; 15(5): 342-6.
106. Leaf DE, Croy HE, Abrahams SJ, Raed A, Walkar SS. Cathelicidin antimicrobial protein, vitamin D, and risk of death in critically ill patients. *Critical Care* 2015; 19:80.
107. Pinheiro da Silva F. The dual role of cathelicidins in systemic inflammation. *Immunology Letter* 2017; 182: 57-60.
108. Dahl B, Schiodt FV, Ott P, Wians F, Lee WM, Balko J et al. Plasma concentration of Gc-globulin is associated with organ dysfunction and sepsis after injury. *Crit Care Med* 2003; 152-6.
109. Nolt B, Tu F, Wang X, Ha T, Winter R, Williams DL et al. Lactate and immunosuppression in sepsis. *Shock* 2017; doi: 10.1097/SHK.0000000000000958.
110. Yan J, Li S, Li S. The role of liver in sepsis. *Int Rev Immunol*. 2014; 33(6): 498-510.
111. Wang Y, Zhu J, Deluca HF. Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophys*. 2012; 523(1): 123-33.

8. ANEXOS

8.1. APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA



COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA IDIVAL



CRISTINA IRENE CAMPO HOYOS, Secretario/a del **COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE CANTABRIA**

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal del estudio:

TÍTULO: Papel de la vitamina D en la evolución y el pronóstico de la sepsis grave y el shock séptico.

TIPO DE ESTUDIO: Proyecto de Investigación (Código interno: 2014.159)

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Este CEIC, emite un informe **FAVORABLE** para que dicho Estudio sea realizado en el **HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA**, actuando como investigador principal el Dr. **BORJA SUBERVIOLA CAÑAS**.

Como queda reflejado en el Acta: **24/2014**.

Lo que firmo en Santander, a **1 de agosto de 2014**


CRISTINA IRENE CAMPO HOYOS
Secretario/a del CEIC



8.2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

“UTILIDAD DE LAS MEDICIONES SERIADAS DE 25(OH) VITAMINA D, 1,25(OH)₂ VITAMINA D, CATELICINA Y BETA2-DEFENSINA EN EL PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES SÉPTICOS”

Investigador principal: Borja Suberviola Cañas

Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla

Email: bsuberviola@yahoo.es

INFORMACION AL PARTICIPANTE O A SUS REPRESENTANTES

ESTIMADO/A SEÑOR/A:

Su médico le ha solicitado de palabra participar en este estudio, ahora y en cumplimiento de la Ley de Investigación Biomédica, reiteramos la explicación por escrito con objeto de que nos autorice a incluirlo en este estudio. Es importante que usted conozca la finalidad y los procedimientos llevados a cabo en este estudio, lea atentamente esta información y no dude en comentar con su médico, al investigador o a cualquiera de sus colaboradores todas aquellas cuestiones que no le queden claras.

El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente y respeta la normativa vigente.

ANTECEDENTES:

Las infecciones graves son causadas por diferentes microorganismos, generalmente bacterias. En la susceptibilidad a la infección por estos microorganismos intervienen diversos factores como el estado nutricional, edad, tabaquismo, consumo de alcohol, inmunosupresión, diabetes, etc. Además, existen diversos factores que hacen que algunos individuos sean más susceptibles a la infección, así como a la evolución y gravedad de ésta.

La vitamina D participa en la respuesta inmune de nuestro organismo frente a las infecciones y su déficit favorece el desarrollo de las mismas. Hasta la fecha, sin embargo, existe muy poca información sobre cómo la deficiencia de vitamina D pueda favorecer el agravamiento de las infecciones o implicar un peor pronóstico de los pacientes que las aquejan. El mayor conocimiento de estos aspectos haría posible

detectar a aquellos pacientes con riesgo de sufrir una evolución desfavorable y quizás en un futuro abriría una nueva vía de tratamiento para las infecciones.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y puede decidir no participar. En caso de que decida participar en el estudio puede cambiar su decisión y retirar su consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico y sin que se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

El objetivo de este estudio es analizar diversos parámetros biológicos relacionados con la vitamina D que pueden estar relacionados con el desarrollo y la gravedad de las infecciones de origen bacteriano. Con esta finalidad se le pide que otorgue su consentimiento para la donación de una muestra de sangre que será utilizada para la investigación de los mismos. Asimismo, se le pide que de su consentimiento para la revisión de datos de su historial clínico para este estudio. La participación en este estudio NO implica ninguna modificación en el diagnóstico o tratamiento de la patología que presenta el participante ni supone la necesidad de llevar a cabo pruebas complementarias añadidas más allá de las anteriormente expuestas.

Este es un estudio observacional, es decir, que no se van a modificar en nada las pruebas que se vayan a hacer para su diagnóstico ni tampoco su tratamiento. Dicho estudio prevé incluir un total de 315 pacientes en un periodo de 28 meses. Se incluirán a los pacientes con un cuadro de sepsis grave o shock séptico. Se excluirán del estudio los pacientes con edad menor de 18 años, aquellos que hayan sufrido una parada cardiaca reciente o que en su historia clínica figuren órdenes de limitación del esfuerzo terapéutico, aquellos en los que no presentando sepsis grave o shock séptico en el momento de su ingreso en la UCI lo hubieran desarrollado durante su estancia en la misma y aquellos que no den su consentimiento para participar en el estudio.

RIESGOS POTENCIALES Y BENEFICIOS:

Para este estudio únicamente se le extraerá una pequeña muestra de sangre en el momento de ingreso en la UCI, a las 72 horas y a la semana del mismo. La sangre será analizada en el Laboratorio y sobre la que se realizarán análisis bioquímicos. Por lo tanto no se prevé que su participación en el estudio pueda resultar perjudicial para su salud. Sin embargo, puede tener un enorme valor para todos los pacientes que tienen sepsis ya que puede contribuir a detectar pacientes de riesgo y, como consecuencia aplicar acciones de mejora en el tratamiento.

A excepción de lo anterior, no variará la asistencia habitual que recibe en la Unidad de Cuidados Intensivos por el simple hecho de participar en este estudio.

ALTERNATIVAS POSIBLES:

Su participación en este estudio es voluntaria, de tal forma que usted puede decidir no participar y también puede retirarse en cualquier momento del desarrollo del estudio, sin que esa decisión afecte en ningún sentido la atención que usted recibe de sus médicos.

CONFIDENCIALIDAD Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS:

Siguiendo la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de datos de carácter personal, todos los datos recogidos en el transcurso del estudio serán tratados de forma estrictamente confidencial, por medio de un sistema de codificación numérica, al cual sólo tendrá acceso el equipo investigador y serán utilizados para la valoración del estudio sin desvelar en ningún momento su nombre ni apellidos. Todas las personas que forman parte del equipo investigador están obligadas a mantener el secreto profesional. Las muestras se mantendrán congeladas en las mejores condiciones con los correspondientes controles de seguridad técnicos y de digitalización de las muestras. Las muestras sólo serán utilizadas para el presente estudio y el remanente de muestra será destruido.

Si tras leer este texto y/o comentar con su médico el contenido del mismo quiere participar en este estudio firme por favor el consentimiento que se le presenta.

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE O SU REPRESENTANTE

TÍTULO DEL ESTUDIO: “Utilidad de las mediciones seriadas de 25(OH) vitamina D, 1,25(OH)₂ vitamina D, catelicidina y β -2-defensina en el pronóstico de los pacientes sépticos”

Persona de contacto: Borja Suberviola Cañas

D/DÑA: _____ **con D.N.I**

Mediante el presente documento DOY MI AUTORIZACION para participar en este estudio

- ☐ **He leído la información y he podido hacer preguntas sobre el mismo**
- ☐ **Considero que la información recibida es suficiente.**
- ☐ **He hablado con el Dr.Borja Suberviola Cañas (investigador)**
- ☐ **Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio cuando quiera sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta en mis cuidados médicos**

Y para que así conste, firmo el presente documento, después de haberlo leído y comprendido, y por mi propia voluntad.

En Santander, a de de 20

Firma del Participante:

Declaración del familiar, persona allegada o representante legal, en su caso, de que han recibido la información por incapacidad temporal o incompetencia del paciente.

Nombre: _____ **DNI**

Firma:

Nombre del Médico: Borja Suberviola Cañas

Firma del Médico:

8.3. ABREVIATURAS

ANP	Péptido natriurético atrial
AMPs	Péptidos antimicrobianos
APACHE II	<i>Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II</i>
AVVP	<i>American College of Chest</i>
CLIA	Inmunoensayo por quimioluminiscencia
DAMP	Patrones moleculares asociados a daños
DC	Células dendríticas
DE	Desviación estándar
DEFB/HBD2	β -2-defensina
DEQAS	<i>Vitamin D External Quality Assessment Scheme</i>
EIA	Enzimoinmunoensayo
ELISA	<i>Enzyme linked immunoSorventAssay</i> (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)
FGF23/Klotho	Factor de crecimiento fibroblástico 23
FIO ₂	Fracción de oxígeno inspirado
GC	Gen de la VDBP humana
HPLC-UV	Cromatografía líquida con detección ultravioleta
IC	Índice cardíaco
ICAM1	<i>Intercellular Adhesion Molecule 1</i> (molécula de adhesión intercelular 1)
IL	Interleuquina
ILC	Células linfoides innatas
IFN γ	Interferon gamma
INR	Razón internacional normalizada
IOM	<i>Institute of Medicine</i>
LC-MS/MS	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas
LL-37/hCAP18	Catelicidina
NF- κ B	Factor nuclear kappa B
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
NK	Células natural killer
NKT	Células natural T killer
PAM	Presión arterial media
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
PaO ₂	Presión arterial de oxígeno
PAS	Presión arterial sistólica

PETIA	Inmunoensayo turbidimétrico mejorado de partículas
PCR	Proteína C reactiva
PCT	Procalcitonina
POAP	Presión de oclusión de la arteria pulmonar
PPR	Receptores de reconocimiento de patrones
PTH	Hormona paratiroidea/Paratirina
RANK-L	<i>Receptor activator of NF-κB</i> (receptor activador de NF-κB)
RIA	Radioinmunoensayo
RNA _m	RNA mensajero
rpm	Respiraciones por minuto
RXR	<i>Retinoid X receptor</i> (Receptor del ácido retinoico)
SaO ₂	Saturación arterial de oxígeno periférico
SCCM	<i>Society of Critical Care Medicine</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (Polimorfismos de un solo nucleótido)
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SRIS	Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
SRM	Material de referencia estándar certificado
SvO ₂	Saturación venosa de oxígeno mixta
SvcO ₂	Saturación venosa de oxígeno central
TACE	<i>TNFα converting enzyme</i>
TGF β	Factor de crecimiento transformante beta
Th1	Células T-helper 1
Th2	Células T-helper 2
TLR	<i>Toll-like receptors</i> (Receptores tipo Toll)
TNFα	Factor de necrosis tumoral alfa
Tr1	Células reguladoras tipo 1
Tregs	Células T reguladoras
TTPa:	Tiempo de tromboplastina parcial activado
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VCAM1	<i>Vascular cell adhesion protein 1</i> (molécula de adhesión vascular 1)
VDBP	<i>Vitamin D binding protein</i> (Proteína transportadora de vitamina D)
VDR	<i>Vitamin D receptor</i> (Receptor de la vitamina D)
VDRE	<i>Vitamin D responsive element</i>
1,25(OH) ₂ D	1,25-dihidroxitamina D o calcitriol
25(OH) D	25-hidroxivitamina D o calcidiol