

11209



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina

División de Estudios de Postgrado



HOSPITAL REGIONAL "1° DE OCTUBRE" ISSSTE

FOLIO INV 108.2005

MEDICIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO
EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL
(ESTUDIO PILOTO)

Tesis de Posgrado para Obtener el
Diploma de Especialista en
CIRUGÍA GENERAL

Presenta:

DRA. CLARA DALILA PADILLA MARTÍNEZ

Asesor de Tesis:

DR. GERARDO DE JESÚS OJEDA VALDÉS

Ciudad de México, Distrito Federal, 2005.

m348356



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



M. en C. José Vicente Rosas Barrientos
Jefe de Investigación
Hospital Regional "1° de Octubre" ISSSTE

Dr. Alejandro Tort Martínez
Profesor Titular del Curso de Cirugía General
Hospital Regional "1° de Octubre" ISSSTE

Dr. Gerardo de Jesús Ojeda Valdés
Asesor de Tesis
Profesor Adjunto del Curso de Cirugía General
Coordinador de Capacitación, Desarrollo e Investigación
Hospital Regional "1° de Octubre" ISSSTE

SUBDIVISION DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

ISSSTE.
SUBDIRECCION MEDICA

21 JUL 2005

COORDINACION DE CAPACITACION
DESARROLLO E INVESTIGACION



ÍNDICE

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Resumen	iv
Summary	v
Introducción	1
Antecedentes	3
Problema	28
Justificación	29
Hipótesis	29
Objetivos	30
Material y métodos	31
Resultados	35
Discusión	41
Conclusiones	43
Referencias bibliográficas	44
Anexos	
1. APACHE II	47
2. Índice de peritonitis Mannheim	48
3. Recolección de datos	49
4. Consentimiento informado	51



DEDICATORIAS

A José Luis

Quien está incondicionalmente a mi lado, apoyándome y caminando junto a mí. Mi novio, mi esposo, mi mejor amigo... siempre

A Clara Sofía y José Miguel

Mis padres, que me impulsan en cada esfuerzo y celebran conmigo cada logro

A mis hermanas

Sofy, Andy y Cristy, siempre inquietas, creciendo y enseñándome a crecer

A mis tíos y abuelos

Que me llevaban, traían, recogían... y comparten los momentos importantes de mi vida

A mis amigos (PA)

Mi aliento de frescura en las épocas amargas y mi compañía en muchos miles de segundos

*A todos: gracias por ser,
por estar...*



AGRADECIMIENTOS

A cada uno de mis profesores

Por contribuir en mi formación para llegar a este lugar

A mis Maestros Nicolaitas

Que me guiaron por el camino humanista de la Medicina

A mis Maestros Cirujanos

Que me enseñaron que la Cirugía es una ciencia, un reto, una virtud: un arte

A todos mis Pacientes

... mis más Grandes Maestros



RESUMEN

La sepsis es la principal causa de muerte en pacientes graves, tiene una incidencia similar a la neumonía y a la bacteremia en las unidades de terapia intensiva. El estrés oxidativo es una representación de daño celular (agudo o crónico) y está en relación con la severidad de la respuesta sistémica. Se desconoce el grado de estrés oxidativo que se presenta en la sepsis abdominal por lo que es necesario realizar estudios para determinar la relación de estas entidades.

Material y Métodos: Estudio piloto para determinar el grado de estrés oxidativo en pacientes con sepsis abdominal, tratados quirúrgicamente en un periodo de 4 meses, en el Hospital Regional "1° de Octubre". Se estudiaron diversos valores: índice de peritonitis de Mannheim, APACHE II, proteína C reactiva, dímero D, nitritos de muestras arteriales, venosas y de líquido abdominal. El análisis estadístico incluyó medida de frecuencia asociación y correlación.

Resultados: 19 pacientes: 11 hombres, 8 mujeres. De acuerdo al índice de peritonitis de Mannheim 9 pacientes estaban en el porcentaje con mortalidad de 2.3%, 6 pacientes con mortalidad de 22.5% y 3 con mortalidad de 59%.

Conclusiones: La comparación de mortalidad con nitritos es de 2.46 ± 1.42 contra 2.29 ± 1.5 ($p=0.5$), resultado que puede ser por un tamaño muestral limitado o una expresión de falla orgánica severa.

Discusión: En nuestros pacientes llama la atención que el marcador de estrés oxidativo fue menor en aquéllos que murieron, lo que va en contra de lo descrito por otros autores.

Palabras clave: Sepsis, sepsis abdominal, estrés oxidativo.



SUMMARY

Sepsis is the leading cause of death in critically ill patients. Oxidative stress (OS) represents cell damage (acute and chronic), and is related to systemic inflammatory response. Response of OS during sepsis is unknown, therefore it is necessary to determine whether they are or not related.

Methods: We studied those patients with abdominal sepsis treated with surgery, in a 4 month period treated in the Hospital Regional "1° de Octubre". We considered: Mannheim index for abdominal sepsis, APACHE II, C reactive protein, D dimer, and OS parameters from venous and arterial blood samples.

Results: 19 patients were included: 11 males, 8 females. According to Mannheim index 9 patients had an average mortality of 2.3%, 6 had 22.5%, and 3 had 59%.

Conclusions: Comparing OS results with mortality, we observed an average of 2.46 ± 1.42 vs 2.29 ± 1.5 ($p=0.5$) which may be because of a limited sample.

Discussion: It is relevant that OS parameter was found in lower concentrations in those patients who died, which is inconsistent with reports from other authors.

Key words: Sepsis, abdominal sepsis, oxidative stress.



INTRODUCCIÓN

La sepsis es la principal causa de muerte en los pacientes graves. Se desarrolla aproximadamente en 750,000 personas al año en Estados Unidos, muriendo por esta causa más de 210,000.^{1,2,3} En México, al igual que en literatura mundial, es la primera causa de morbilidad en la mayoría de las unidades de terapia intensiva y el 25% de los diagnósticos de ingreso a ellas.⁴

Sepsis se define como el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) debido a infección y debe presentar dos ó más de los siguientes datos: fiebre ($>38^{\circ}\text{C}$), hipotermia ($<36^{\circ}\text{C}$), taquicardia ($>90/\text{min}$), taquipnea ($>20/\text{min}$) y alteraciones en leucocitos como leucocitosis ($>12,000/\text{ml}$), leucopenia ($<4,000$) o 10% ó más de bandas. Sepsis severa o grave es SIRS asociado a hipotensión que responde a líquidos o bien que cursa con disfunción orgánica, y que puede incluir – pero no está limitada–: lactato $>2\text{mmol/L}$, oliguria $<30\text{ mL/hr}$, hipoxemia $\text{PaO}_2 <60\text{ mmHg}$ (con $\text{FiO}_2\ 21\%$) o alteraciones neurológicas. Si no es suficiente el manejo con líquidos y el paciente requiere de aminas para tener adecuada respuesta se considera choque séptico.^{2,5}

El principal foco productor de sepsis es el tracto respiratorio, seguido por el abdomen y el sistema urinario.^{5,3} Sepsis abdominal es el estado de respuesta inflamatoria sistémica con un foco infeccioso abdominal documentado.^{4,6} La sepsis abdominal tiene una incidencia similar a la neumonía y a la bacteriemia en las unidades de terapia intensiva, por lo que se puede inferir que produce un incremento tanto en la morbilidad, como en el costo de atención y el desenlace clínico de muchos pacientes hospitalizados.⁵



Clasificación de las infecciones intraabdominales según su etiología:

- *Primaria*. O espontánea. Probablemente se presenta por diseminación hematógena, principalmente observada en pacientes con ascitis y es causada por un número limitado de bacterias en su mayoría coliformes y se pueden resolver únicamente con tratamiento antimicrobiano.^{4,7}
- *Secundaria*. Es producida por la salida de líquido intestinal a la cavidad peritoneal. Es polimicrobiana por su naturaleza y se puede presentar como peritonitis generalizada o como absceso localizado.
- *Terciaria*. Es aquella infección peritoneal persistente o recurrente que usualmente se presenta en un paciente crítico, con peritonitis secundaria cuando las defensas del huésped y la terapia antimicrobiana han fracasado y se ha producido una sobreinfección por organismos resistentes (usualmente bacilos Gram negativos y hongos).⁸ Por lo general, se presenta en pacientes que se encuentran con datos de sepsis *oculta*, manifestada por estado cardiovascular hiperdinámico, fiebre de bajo grado y estado hipermetabólico.



ANTECEDENTES

ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo es una condición en la que *hay una mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno que antioxidantes*, tales como las vitaminas liposolubles (E, A o β -caroteno) o hidrosolubles como la vitamina C, o algunas enzimas como la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, ya sea por el exceso de producción de los primeros o la falta de producción de los segundos y se ocasiona daños especialmente en pacientes en estado crítico.^{9,10,11,12}

Las especies reactivas de oxígeno (ERO's), moléculas o átomos formados en la reducción del oxígeno que pueden ser radicales o no-radicales libres, son producidos por la absorción de radiaciones, metabolismo de fármacos, procesos metabólicos normales y metales de transición. Los no-radicales de oxígeno se convierten en ERO's tras su reducción. Los ERO's más comunes son el superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y OH^{\cdot} .^{9,10,13}

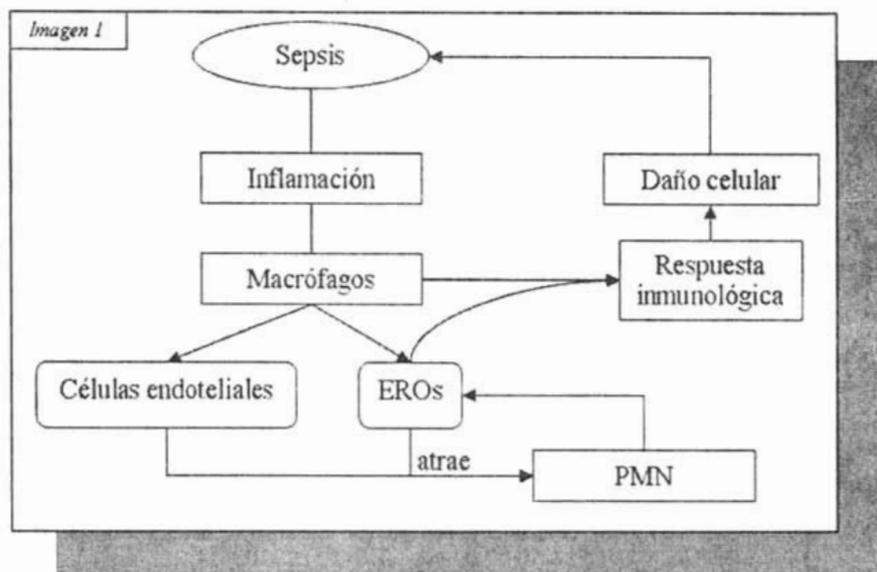
El oxígeno participa en la cadena de transporte de electrones dentro de la mitocondria, donde oxida otras moléculas para la producción metabólica de energía en forma de ATP, lo cual es conocido como óxido-reducción o *redox*. En estas reacciones, la molécula que dona su electrón se oxida y la molécula que recibe un electrón se reduce. Cuando el oxígeno reduce al agua forma varios ERO's. Éstos pueden ser creados por tres métodos: la pérdida de un electrón, la ganancia de un electrón o la unión covalente de dos moléculas en la que cada una tiene un electrón



libre. La reacción de redox deja por un lado moléculas reducidas (ERO's) inestables capaces de reaccionar con otras moléculas y causar daño a la membrana celular, proteínas y ADN. Las altas concentraciones de oxígeno inducen la formación de ERO's.^{9,13}

Un oxígeno (O_2) al que se le agregan 4 electrones se reduce: en la primera adición de un electrón se forma superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el cual puede salir de la mitocondria y participar en reacciones químicas que dañan a la célula y, al actuar como un agente reductor, ayuda a producir otros oxidantes. La adrenalina, esteroides y folatos pueden reaccionar con el oxígeno y formar $O_2^{\cdot-}$. La adición de un electrón al superóxido produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2), principalmente en la mitocondria, que es el ERO's más estable; la superóxido dismutasa (SOD) remueve el $O_2^{\cdot-}$ en una reacción que genera H_2O_2 . Este último inactiva las enzimas, cruza la membrana celular y reacciona con hierro y cobre para reducirse y producir hidroxilo (OH^{\cdot}), generalmente en las reacciones de Fenton. Son los ERO's más dañinos pues reaccionan con varias sustancias y causan daño del ADN, un factor que contribuye para el desarrollo de cáncer. Después de este proceso, el O_2 inicial es, al fin, totalmente reducido a agua mediante la adición de un electrón.^{9,10}

Los fagocitos también son importantes en su formación ya que lo usan como una defensa contra organismos extraños, estos sistemas de defensa en ocasiones también son dañinos para el cuerpo. Al presentarse un proceso infeccioso los macrófagos se activan liberando ERO's que estimulan al endotelio vascular, y a través de la liberación de interleucina 8 (IL-8) y plaquetas atraen a otros macrófagos y polimorfonucleares, secretando más ERO's. Éstos ayudan a los macrófagos y polimorfonucleares en la eliminación de los agentes extraños a la vez que activan la respuesta inflamatoria. La consecuencia final es el bloqueo de la microcirculación por la agregación plaquetaria, de eritrocitos y leucocitos, que clínicamente se expresa como edema, hemorragia, trombosis, daño a órganos y muerte (imagen 1).^{9,10,14}



Además tienen un papel importante en la respiración mitocondrial y producción de prostaglandinas.¹⁰

Daños del estrés oxidativo

Los ERO's causan daño a los lípidos, proteínas y ADN. Los lípidos son afectados a causa de los radicales hidroxilo mediante la peroxidación lipídica en la membrana celular. En la parte lipídica de la membrana, el OH^{\bullet} remueve el hidrógeno de las grasas insaturadas, generando un radical lipídico que, a su vez, remueve otra molécula de hidrógeno de la siguiente molécula formando otro radical lipídico. De esta forma, se crea una reacción en cadena que puede causar la muerte celular y una respuesta inflamatoria sistémica, también puede dañar las membranas celulares alterando su fluidez y permeabilidad, o pueden afectar el ADN al formar productos tóxicos como aldehídos y radicales alcoxil. Tras la



respuesta inflamatoria los neutrófilos, estimulados por la elevación de la integrina β_2 , y macrófagos migran a las áreas de peroxidación lipídica, se estimula la migración de los fagocitos a estos tejidos y generen más ERO's permitiendo que el ciclo continúe.^{9,12,15}

Las proteínas, en especial la función de las enzimas es afectada por los ERO's. El radical hidroxilo oxida los aminoácidos lisina, serina, arginina y prolina. La modificación de las enzimas ocasiona inactividad de éstas o que el sistema inmunológico las identifique como cuerpos extraños y cree anticuerpos contra ellas.⁹

Los ERO's pueden dañar el ADN de dos formas: al dañar las bases nitrogenadas o al dañar el carbohidrato desoxirribosa. Los radicales hidroxilo atacan la timina y modifican su estructura química y la remueve como una base. Aunque la célula tiene un control de la replicación al reparar los errores de transcripción, no siempre encuentra los errores, por lo que no puede controlar todo el daño. Además los ERO's también afectan la actividad de la enzima DNA polimerasa por lo que su fidelidad disminuye. La modificación de la timina a glicol-timina y otros cambios en el ADN por sus productos se detecta en la orina, indicando una actividad oxidativa excesiva. Estos cambios en el ADN sugieren un posible desarrollo de cáncer, ya que puede propiciar su reproducción y metástasis, sin embargo, también se sabe que el exceso de éste puede ocasionar su destrucción.^{9,12,13}

El óxido nítrico (NO) es un vasodilatador endógeno implicado en la hipotensión inducida por sepsis, es además un inmunomodulador que en concentraciones altas puede tener efectos citotóxicos. Tiene un papel fisiopatogénico importante en el desarrollo del shock séptico, la inhibición de su actividad o producción es útil en el tratamiento de éste estado. La enzima responsable de la producción de NO es la sintetasa del óxido nítrico (NOS) presente en tres isoformas.^{14, 15}



Las dos primeras isoformas están presentes en ciertas células (cNOS) no requieren agentes que estimulen su expresión, pero dependen de la activación inducida por el calcio. Estas dos isoformas son el NOSIII o eNOS que fue aislada de las células endoteliales y el NOSI o nNOS aislada del tejido neuronal del cerebro. La tercera isoforma es diferente a las demás debido a que su expresión es inducida por mediadores inflamatorios y su actividad es independiente del calcio, se conoce como NOS inducible (iNOS o NOSII). La degradación del I κ B y activación del NF κ B se asocian al incremento del iNOS, proteína inflamatoria del macrófago 2 (MIP-2) e ICAM-1. Las tres isoformas de NOS oxidan el grupo guanidino terminal del L-arginina para producir óxido nítrico y L-citrulina. Los análogos de L-arginina, actúan como inhibidores, sustituyen a los grupos guanidino y bloquean la producción de óxido nítrico.^{22,23}

Los mediadores asociados con el shock séptico son la endotoxina y las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-2, TNF e interferon- γ estimulan la iNOS para incrementar la producción de óxido nítrico. El NO finaliza en una forma estable como nitrito o nitrato urinario. La función normal del NO como vasodilatador, cuando se encuentra en exceso produce hipotensión y anormalidades en el flujo sanguíneo. También interrumpe el metabolismo celular, daña el ADN y causa muerte celular.

Pronóstico y diagnóstico

Para el pronóstico del posible desarrollo de enfermedades por estrés oxidativo se miden los niveles séricos de: glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, catalasa, retinol, tocoferol, caroteno, ascorbato (especialmente en pacientes que desarrollan falla en algún órgano), selenio y O₂ que en condiciones de estrés oxidativo se encuentran bajos; glutatión, xantine oxidasa peróxidos de lípidos, carbonilos proteicos y malondialdehído, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, generalmente se encuentran altos; y los niveles de vitamina E, cobre y



zinc no varían significativamente. También se toman en cuenta los niveles en orina de F2-isoprostanos, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y desoxiguanosina; y finalmente en la exhalación los niveles de peróxido de hidrógeno, isoprostano y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.^{9,10}

Estrés oxidativo y algunas entidades

La acumulación excesiva de ERO's se puede deber a procesos fisiopatológicos o inhabilidad de los antioxidantes para reducir su acumulación. La escasa producción de antioxidantes o su destrucción ocasiona el aumento de radicales libres. La formación de ERO's se asocia con la severidad de la enfermedad, lo cual revela la importancia de controlar su producción.^{9,10,11,12}

Las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo son shock séptico, sepsis, shock cardiogénico, coagulación intravascular diseminada, enfermedad cardiovascular, quemaduras, fatiga diafragmática, diabetes mellitus, trauma, enfermedad pulmonar crónica obstructiva, heridas, reperfusión isquémica y cáncer. Algunos síndromes asociados al estrés oxidativo son el síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA), de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), de disfunción orgánica múltiple (SDOM).^{9,11,12}

a) Reperfusión isquémica

El daño por reperfusión isquémica se relaciona con la formación de radicales libres. Las células endoteliales responden a la isquemia inducidas por las endotoxinas, citocinas, adherencia neutrófila y acidosis para la formación de xantina oxidasa que es responsable de la formación de $O_2^{\cdot-}$ en la reperfusión. Estas células son estimuladas para incrementar la permeabilidad vascular ocasionando la disminución de capilaridad.⁹

**b) Quemaduras**

En los casos de quemaduras las concentraciones de malondialdehído son mayores, al igual que las proteínas diana del daño oxidativo. La actividad de la superóxido dismutasa, la elastasa, la catalasa y la enzima FLA₂ también es mayor en aquellos pacientes quemados con respecto a un grupo control. Aunado a ésto, los valores de β-caroteno son menores en los casos de quemaduras.¹⁶

c) Síndrome de distrés respiratorio agudo y sepsis

En estudios realizados acerca de SDRA y sepsis, los niveles de antioxidantes disminuyeron y los ERO's aumentaron. Los pacientes críticos con sepsis que murieron tuvieron niveles más bajos de xantina oxidasa, mayor producción de radicales libres y niveles altos de lactato que los pacientes con sepsis que sobrevivieron. En pacientes con SDRA el estrés oxidativo aumentó, disminuyeron los niveles de nutrientes con antioxidantes y aumentó la peroxidación lipídica. Durante el estrés oxidativo y trauma hay depleción de glutamina, en los pacientes en estado crítico la deficiencia de glutamina y aumento de ERO's aumenta la mortalidad. En los pacientes con síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA), una reducción de los niveles plasmáticos de nutrientes con propiedades antioxidantes es evidencia de estrés oxidativo.⁹

d) Fatiga diafragmática

La fatiga diafragmática es común en pacientes que se les retira la ventilación mecánica, debido al desequilibrio entre el suministro de energía y la demanda de energía. El aumento del flujo de sangre oxigenada puede prevenir esta fatiga. La actividad agotadora del músculo diafragmático produce ERO's que lo dañan y fatigan, ocasionado por la lesión de las células musculares. Es importante mencionar que los ERO's se producen en músculos contráctiles. La disminución de la función contráctil diafragmática causada por la



peroxidación lipídica y el aumento de actividad de glutatión durante la respiración resistiva se relacionan con la deficiencia de vitamina E.⁹

e) Enfermedades cardiovasculares

Los niveles altos de estrés oxidativo se asocian con la prevalencia de enfermedades cardiovasculares en pacientes en cuidados intensivos. Los radicales libres se relacionan con los procesos de aterosclerosis, es decir, los ERO's aumentan el crecimiento vascular de las células musculares lisas y el aumento de la apoptosis. Esto produce la inactivación del óxido nítrico ocasionando la disfunción endotelial y producción de ERO's los cuales agrupan los monocitos en la pared vascular e inducen aterosclerosis.⁹

f) Diabetes mellitus

Los marcadores plasmáticos de la peroxidación lipídica son mayores en pacientes con diabetes mellitus y el daño al ADN es cuatro veces mayor que en pacientes sin esta enfermedad. La hiperglicemia contribuye al estrés oxidativo con la formación de ERO's con la autooxidación de la glucosa y deprime las defensas naturales antioxidativas. En estos pacientes disminuye el nivel de glutatión en el eritrocito relacionado con el control de los niveles de hemoglobina.⁹

Tratamiento del estrés oxidativo

Para prevenir la formación de ERO's en pacientes en cuidados intensivos es necesaria administrar una concentración adecuada de oxígeno. En el tratamiento del estrés oxidativo es importante tener un sistema apropiado de cuidados médicos y asistenciales, equipo y profilaxis.⁹

En la homeostasis del cuerpo los rangos de reducción y oxidación son iguales, es decir, son equilibrados como en la mayoría de los humanos sanos. El balance de redox se mantiene por enzimas



especializadas y antioxidantes creados por el cuerpo. El plasma y los eritrocitos tienen propiedades eliminadoras (scavengers) de radicales libres y antioxidantes, cuando el $O_2^{\cdot\cdot+}$ entra en ellos, la catalasa puede destruir los radicales libres. Es por eso que actualmente se está estudiando el tratamiento de estrés oxidativo por medio de una dieta con suplementos antioxidantes.^{9,10,11,12}

Los radicales libres de oxígeno son neutralizados por los antioxidantes como la vitamina E o α -tocoferol y enzimas como el superóxido dismutasa. Los antioxidantes son sustancias derivadas de la dieta que disminuyen la acumulación de radicales libres mediante la reparación de estos y deteniendo sus efectos dañinos en la célula. La suplementación con antioxidantes debe ser cautelosa debido a que la sobredosis evita la activación de los mecanismos normales de defensa. Algunos antioxidantes inducen reacciones con sustancias como metales que aumentan la formación de radicales libres.² Existen antioxidantes primarios (previenen la formación de radicales de oxígeno mediante la remoción de precursores de radicales libres o inhibiendo la catalisis) como la glutatión peroxidasa y la catalasa; antioxidantes secundarios (reaccionan con las especies reactivas de oxígeno para eliminarlas o inhibirlas) como la vitamina C y E; y antioxidantes endógenos (se encuentran en determinados lugares de forma intercelular, en la membrana o extracelular). Los β -bloqueadores como la angiotensina (convertidores de inhibidores enzimáticos) y las estatinas también tienen actividad antioxidante.¹⁰

Los eliminadores de radicales libres de oxígeno son el superóxido dismutasa (SOD), catalasa y sistema de glutatión. Administrar eliminadores de radicales libres durante isquemia o reperfusión disminuye la formación de ERO's y daño celular. El SOD cataliza la conversión de $O_2^{\cdot\cdot+}$ a O_2 y H_2O_2 , el H_2O_2 se reduce por la catalasa o el glutatiónperoxidasa. El pretratamiento con SOD protege contra envenenamiento en pacientes que reciben altas concentraciones de



oxígeno. La catalasa lo convierte a H_2O y O_2 en la membrana celular, actúa principalmente en la remoción de H_2O_2 de las células del miocardio.⁹

El medicamento antioxidante más utilizado es la N-Acetilcisteína (NAC o mucomyst), un derivado comercial de la L-cisteína y se disocia en acetato y cisteína. Esta última se une con el glutamato para formar una pequeña proteína llamada glutatión. Además al separarse deja un grupo sulfidrido (tiol) que también tiene una acción antioxidante. Entre sus efectos están la reducción de la formación de ERO's y el estrés oxidativo así como sus enfermedades (fatiga diafragmática) y síndromes; también actúa incrementando la fagocitosis de los neutrófilos en pacientes con sepsis y síndrome de respuesta sistémica inflamatoria. Este medicamento se puede administrar por vía oral, intravenosa o por inhalación. Ha sido utilizado desde hace varios años para enfermedades como la obstrucción pulmonar, y actualmente están siendo probados como tratamiento del SDRA. Estudios de los efectos hemodinámicos del tratamiento con NAC han demostrado que el 45% de los pacientes que reciben este tratamiento aumentan su consumo de oxígeno, además se mostró mayor supervivencia y una atenuación del estrés oxidativo en pacientes con sepsis. Aunque no se han hecho suficientes estudios para definir a qué tipo de pacientes beneficia más el uso de NAC, se ha encontrado que el tratamiento con este medicamento beneficia a los pacientes que aún no han presentado estrés oxidativo, es decir, que estén en el proceso inflamatorio o que acaben de presentar la isquemia.^{9,11}

La glutatión peroxidasa (GSH) es una enzima antioxidante que contiene selenio y glutatión, compuesta de glutamina, cisteína y glicina. Se encuentra en el citoplasma y mitocondria. La destrucción de H_2O_2 por la glutatión peroxidasa produce glutatión disulfuro y agua, en otra reacción retorna a glutatión. El estrés oxidativo se mide con la concentración de glutatión y glutatión disulfuro. El rango de glutatión a



glutación disulfuro es mayor, si hay menor concentración de glutatión se acumula una cantidad tóxica de H_2O_2 .⁹

Las vitaminas son eliminadoras de los radicales libres de oxígeno. El ácido ascórbico reduce la peroxidación lipídica y los niveles de H_2O_2 . La vitamina E en su forma activa de α -tocoferol es un antioxidante liposoluble usado para la prevención de peroxidación lipídica como en pacientes con aterosclerosis y disminuyendo la fatiga diafragmática. Protege los ácidos grasos poliinsaturados en la membrana celular de la reacción autocatalítica en cadena de la peroxidación lipídica. Su acción fuera de las membranas celulares es baja. Además se ha encontrado que en pacientes con sepsis disminuye la peroxidación de los lípidos, la coagulación en los vasos sanguíneos, los niveles de plasma de lactato y el daño hepático, aunado a esto aumenta la generación de ATP, la población de monocitos y la tasa de supervivencia.^{9,11}

El tratamiento con vitamina C aún no ha sido muy estudiado, esto se debe a que en condiciones de estrés oxidativo extremo, como sepsis, puede actuar como pro-oxidante. La superóxido desmutasa tiene el mismo efecto en condiciones de sepsis, ya que al actuar como antioxidante libera el radical $-OH$, y para eliminarlo debe de haber una cantidad adecuada de catalasa.¹¹

Algunos estudios han demostrado que la combinación de algunos antioxidantes, por ejemplo Vitamina E y C, son complementarios y proporcionan un mejor tratamiento a los pacientes con estrés oxidativo, reduciendo la necesidad de ventilación artificial, la estancia en la unidad de terapia intensiva y el desarrollo de fallos en órganos, aunque también se encontró una alteración en el contenido de lípidos y ácidos grasos, aunque no se sabe con certeza si ésto es causa de la actividad antioxidante o de la alteración del metabolismo de los lípidos causado por la inflamación.¹¹



La catálisis de descomposición del peroxinitrito y la SOD mimética previene la lesión orgánica asociada al shock, inflamación y lesión por reperfusión isquémica. La lidocaina se ha administrado como un agente antioxidante para tratar la hiperoxia inducida y la sepsis inducida y disfunción diafragmática; atenúa la fatiga e inhibe la peroxidación lipídica.⁹

Tanto la SOD como la catalasa pueden prevenir la hiperglicemia asociada a disfunción endotelial y disminuir la respuesta vasodilatadora al óxido nítrico. La SOD potencia el efecto del óxido nítrico y la glucosa excesiva tiene un efecto negativo en la función celular endotelial.⁹

Las hemo-oxigenasas (HO's) son enzimas necesarias para el metabolismo del hemo, es decir, para la reacción inicial de la degradación del grupo hemo que genera cantidades equimolares de biliverdina IXa, monóxido de carbono (CO) y hierro libre. La transcripción de HO-1 es activada por la estimulación del lipopolisacárido (LPS) bacterial, estrés por calor, hipoxia y exposición a óxido nítrico (NO); en las células endoteliales su transferencia genética protege contra la lesión del pulmón por los oxidantes. La expresión de HO-2 y HO-3 ocurre en varias células. Estas HO's se relacionan con la defensa corporal contra el estrés oxidativo y la inhibición de citocinas proinflamatorias. Se ha demostrado que su propiedad antioxidante está mediada por los productos de los HO's, es decir, por la bilirrubina, CO y ferritina.¹⁷

La expresión del HO-1 y HO-2 es importante en la ventilación artificial con presencia de LPS bacterial. La inhibición de la actividad de la sintetasa de óxido nítrico inducible (iNOS) altera la regulación de la sepsis inducida de los músculos con HO's. La inhibición de la actividad del HO aumenta el estrés oxidativo muscular propiciado por LPS y empeora la disfunción muscular contráctil causada por LPS.¹⁷



SEPSIS

Hasta 1992 la sepsis y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) eran considerados como el mismo padecimiento, éste tenía como síntomas el aumento de la temperatura, inflamación, alteraciones en el ritmo cardíaco y respiratorio y cambios en el conteo y composición de los glóbulos blancos. En ese año, el Colegio Americano de Médicos de Tórax (American College of Chest Physicians, ACCP) y la Sociedad de Medicina de Cuidados Intensivos (Society of Critical Care Medicine, SCCM) propusieron definiciones para sepsis, SRIS, sepsis severa, entre otras; con el fin de mejorar el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.^{5,18}

La sepsis es un estado grave de estrés oxidativo con presencia de defensas antioxidantes endógenas vencidas. Los síntomas característicos de esta entidad son (entre otros): plaquetopenia, oliguria, alteraciones en la perfusión tisular, llenado capilar alargado, petequias, hipoglucemia y cambio en el estado mental del paciente. Se asocia a varias condiciones como SRIS, shock séptico y síndrome de disfunción orgánica múltiple (SDOM), además de una relación entre la respuesta inflamatoria y la coagulación. La sepsis presenta un desequilibrio entre los pro y los anti-inflamatorios, por lo que puede existir una respuesta inflamatoria exagerada, inmunosupresión, apoptosis o la falla de algún órgano.⁵ Actualmente representa un problema grave de salud, en los últimos 30 años su mortalidad y morbilidad (del 28 al 50%) no han variado o incluso han aumentado, debido a la falta de estudios e investigaciones, el aumento de la esperanza de vida de los pacientes, de las enfermedades crónicas degenerativas y de la utilización de procedimientos quirúrgicos.^{14,18}



Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple

El SDOM se define como una entidad que produce la falla progresiva de varios órganos o sistemas, y es la causa más común de muerte actualmente en la unidad de cuidados intensivos. El sistema SOFA (Sequential Organ Failure Assesment) es utilizado para evaluar la mortalidad de este padecimiento asociado a sepsis, que correlaciona el número de órganos que fallan con el porcentaje de mortalidad, estos datos se recolectan en una tabla para finalmente cuantificarlos dándole una calificación más alta mientras más órganos estén afectados. Así, se ha encontrado que los pacientes que tienen una calificación más alta en los primeros 2 días tienen un índice de mortalidad del 95%.¹⁸

Los factores relacionados con la presencia de SDOM son:^{3,18}

- *Anormalidades de la coagulación:* Se deben principalmente a estimulación directa de la cascada de citocinas, la liberación endotelial de un factor anticoagulante y al daño celular. Los factores coagulantes son mediadores de la respuesta inflamatoria que amplifican el proceso séptico. La trombina, entre otros factores coagulantes, puede activar los monocitos, macrófagos y células endoteliales, además de producir EROs, lo que contribuye al daño endotelial que requiere de más factores coagulantes, creando así un ciclo. En condiciones normales, el cuerpo previene la formación de este ciclo con ayuda de las proteínas C y S, antitrombina y el inhibidor de la vía del factor tisular.

- *Alteraciones de la fibrinólisis:* Las células endoteliales son la principal fuente de la enzima responsable de la fibrinólisis: el activador plasminógeno, así como de su inhibidor. Éste es limitado por la proteína C, lo que permite la fibrinólisis. Cuando la acción del



activador plasmogénico es menor a la de su inhibidor, se crea un estado procoagulante por la supresión de la fibrinolisis.

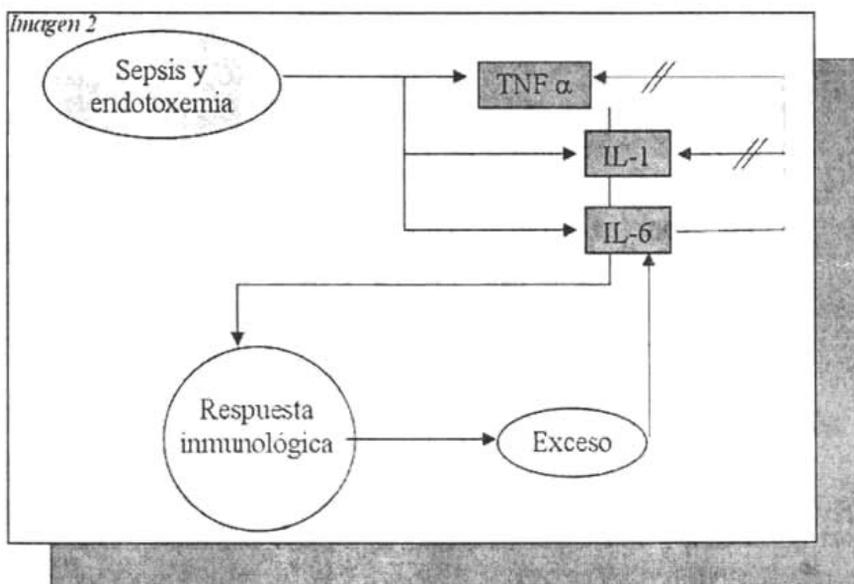
- *Daño endotelial:* Se puede deber a efectos tóxicos de varios mediadores o a los procesos causantes de la enfermedad. El daño endotelial puede incrementar la permeabilidad vascular que se refleja en una mala distribución de la sangre en los órganos y por consiguientes la falta de nutrientes, oxígeno y otras sustancias transportadas por ella. Además la sepsis severa se acompaña generalmente de un bombeo de sangre deficiente que ocasiona una mala perfusión de sangre a los órganos. La activación de las células incrementa la expresión de sustancias potencialmente dañinas como la óxido nítrico sintetasa, que incrementa este compuesto, las sustancias de adhesión intercelular y las interacciones de las células endoteliales. Al alterar los niveles de los mediadores, se puede modificar el tono de los vasos, en presencia de vasopresina o endotelina, se produce vasoconstricción y en presencia de óxido nítrico e histamina se dilatan los vasos, ocasionando hipotensión. La falta de irrigación a las células endoteliales puede ocasionar edema, infiltración celular y daño tisular. Generalmente se observa edema pulmonar, aunque en pacientes con sepsis severa también se puede encontrar en hígado, riñones, corazón, piel, músculos e incluso cerebro.

- *Alteraciones de la mucosa intestinal:* La sepsis está asociada con el incremento de la permeabilidad de los intestinos, la pérdida de la mucosa intestinal y la permanencia bacteriana. Dado que los enterocitos de la mucosa intestinal son productores de citocinas, los daños causados por la sepsis pueden verse reflejados en otros órganos como el hígado, que la recibe por medio de la vena porta. Durante el proceso inflamatorio, la mucosa intestinal incrementa la cantidad de citocinas que secreta, de ellas la más importante es la interleucina 6 (IL-6). Esta citocina forma parte de la respuesta



inflamatoria para proteger al cuerpo de organismos invasores, pero además, limita la producción del factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$) y a la interleucina 1 (IL-1), sirviendo así, como pro y anti-inflamatorio, dependiendo de la concentración de las células y la necesidad del organismo (imagen 2).¹¹

- *Anormalidades en la microcirculación:* Se pueden formar agregados plaquetarios que impiden el paso de la sangre por los capilares provocando isquemia en algunos casos. Debido al estancamiento de las células y a la trombosis resultante, la sepsis puede venir acompañada de una deformación de los eritrocitos.



- *Utilización de oxígeno:* Aún cuando hay una irrigación correcta en algunos casos, la habilidad de las células de utilizar el oxígeno no siempre es la necesaria a causa de un mal funcionamiento de las mitocondrias. La endotoxina reduce el oxígeno que se consume lo que conlleva a un shock en el que se producen oxidantes que activan la adenosin-ribosa-difosfato resultando en falta de energía y



disfunción respiratoria e intestinal. Además la sepsis induce a un aumento de la energía requerida en el descanso, un balance de nitrógeno negativo, hiperglicemia y aumento de gluconeogénesis.

Algunos factores que pueden propiciar mayor cantidad de órganos dañados son la edad, ya puede haber problemas anteriores en algunos órganos y con la edad las probabilidades de que esto suceda aumentan; los factores genéticos, que pueden afectar la producción de mediadores endógenos; y el sexo del paciente que puede provocar mayor susceptibilidad a ciertas enfermedades.¹² Entre los factores genéticos que hacen susceptible a un grupo de la población para desarrollar sepsis son los polimorfismos (pequeñas diferencias genéticas entre algunos individuos). Estos polimorfismos, en la mayoría de las interleucinas se asocian a susceptibilidad en diferentes enfermedades infecciosas, sin embargo, específicamente en la IL-1 estas modificaciones genéticas no causan predisposición a las infecciones sino a la sepsis en ciertos grupos étnicos como los caucásicos y españoles.²⁰

Factores bioquímicos de la respuesta inmunoinflamatoria (*imagen 3*)

En la sepsis la activación de una respuesta inmunoinflamatoria ocurre tanto por estímulos infecciosos como no infecciosos. Las bacterias gram-negativas y principalmente las gram-positivas son las responsables de la respuesta infecciosa, que es resultado de la estimulación de la respuesta inmunológica innata mediada por los monocitos, macrófagos y neutrófilos. Estas células son activadas ante la presencia de bacterias e inician su actividad fagocitaria. El lipopolisacárido (LPS, endotoxina) es el principal componente de la pared celular de las bacterias gram-negativas y las exotoxinas son de las bacterias gram-positivas. Los agentes no infecciosos que producen una respuesta inmunoinflamatoria son químicos, alérgicos y por radiación.^{10 21}



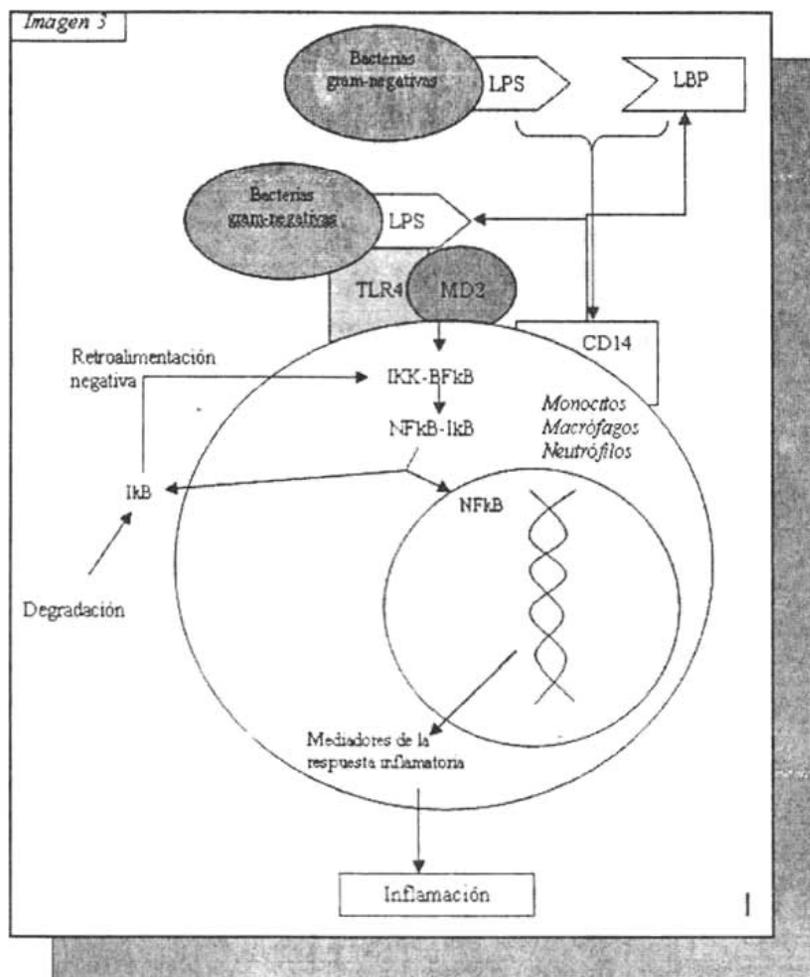
El LPS induce la transcripción genética y la subsecuente expresión de mediadores inflamatorios. El LPS se une a la proteína ligadora de LPS (LBP) en el plasma. Una vez unido es presentado al receptor de superficie CD14 del monocito, donde interactúa con el receptor de transducción transmembranal de señal. El complejo de receptor similar a Toll 4 (TLR4) y la proteína accesoria MD-2 y la unión del LPS activan varias vías de señales intracelulares como el factor κ B nuclear cinasa (disociado en I κ B cinasa o IKK y en el factor nuclear κ B o NF κ B) y tres proteincinasas activadas por mitógeno (MAPK). Estas vías fosforilan y activan varios factores de transcripción como el NF κ B/proteínas rel, proteína activadora 1 (AP-1) y factor-interleucina-6 nuclear (NF-IL-6). Finalmente esto da lugar a la inducción genética rápida y a la expresión de mediadores inflamatorios (citocinas, quimocinas, mediadores de lípidos, sintetasa inducible de óxido nítrico, enzimas y moléculas de adhesión). Otras formas mediante las cuales el LPS induce la transcripción genética y la expresión de mediadores inflamatorios es por mecanismos TREM-1 (receptores disparador expresados en las células mieloides), canales transmembranales de potasio en macrófagos y proteínas intracelulares citoplasmáticas Nod 1 y Nod 2.^{10,21,22}

La transcripción genética está controlada por factores de transcripción, de éstos los que se asocian a la activación de un gen alterado en la sepsis son la AP-1, NF-IL-6 y NF κ B. Este último es un factor de transcripción generalizado, importante para la función normal del sistema inmune, es decir, modula la activación necesaria de genes para la respuesta inmune rápida. La producción incrementada o activación prolongada del NF κ B resulta en la sobre-expresión de proteínas mediadoras y las complicaciones clínicas conocidas de la sepsis. El NF κ B está presente en el citoplasma en forma inactiva (por su unión con una proteína inhibidora llamada I κ B). Se activa, mediante su fosforilación o eliminación del factor inhibidor en las células, por estímulos inflamatorios asociados al LPS (citocinas, ERO's, activadores



de proteincinasa C, virus, luz UV y radiación ionizante). Al mismo tiempo que produce las proteínas mediadoras, el NFκB también crea IκB, lo que le da la capacidad de retroalimentación negativa. La activación del NFκB está en estrecha relación con la sepsis, debido a que la activación de éste es regulada por el estrés oxidativo. Es importante hacer notar que a mayor grado de activación del NFκB existe una mayor tasa de mortalidad. El LPS puede inducir la síntesis de citocinas anti-inflamatorias como la IL-10 que bloquea la activación del NFκB y la regulación del factor de transcripción.^{10,19}

Tras la disociación del IκB y el NFκB, la tioredoxina (importante en la homeostasis de la redox) reduce al NFκB permitiendo que se una al ADN. Se ha demostrado el papel doble de la tioredoxina en la regulación del NFκB, debido a que en el citoplasma, comparado con el núcleo, la tioredoxina interfiere con la señal de las quinasas IκB y bloquea la degradación del IκB. Esto es importante debido a que la translocación del NFκB al núcleo celular es posible sólo cuando el IκB es degradado. El NFκB ahora es capaz de unirse a la secuencia de genes e iniciar la transcripción, traducción y síntesis de proteínas. Comprender qué genes contienen secuencias específicas con áreas de unión al NFκB en sus regiones promotoras permite identificar los posibles síntomas que se presentan tras una respuesta inflamatoria en la sepsis. Algunos de estos genes son citocinas y factores de crecimiento (factor de necrosis tumoral α, IL-1β, -2, -6 y -12, interferón-β, factor de crecimiento endotelial vascular), quimocinas (IL-8, crecimiento relacionado a oncogenes, células T), células de adhesión molecular (selectina-E, molécula intercelular de adhesión celular 1, molécula de adhesión vascular celular 1), enzimas (sintetasa de óxido nítrico tipo II, fosfolipasa A2), inmunoreceptores (factor tisular IL-2, complejo de histocompatibilidad mayor clase I) y proteínas de fase aguda (proteína ligadora de LPS, proteína C reactiva), sin embargo aunque contengan estos sitios de unión a NFκB no significa que estén regulados por éste. Las citocinas tienen retroalimentación negativa sobre la continuación de transcripción de genes por la NFκB.^{10,19}



Tratamiento

La sepsis y sus secuelas continúan siendo las principales causas de morbilidad y mortalidad en la unidad de cuidados intensivos, entre 400,000-500,000 pacientes desarrollan sepsis en esta unidad cada año en Europa y EUA. La mortalidad en pacientes con SRIS es de 26% y con shock séptico de 82%, sin cambios aunque se optimicen las técnicas



terapéuticas. En Estados Unidos se ha notado un incremento del 1.5% anual de los pacientes que presentan sepsis, lo que trae como consecuencia un desequilibrio entre el número de pacientes con sepsis y el número de profesionales de la salud disponibles para atenderlos, además de un incremento en el gasto de los hospitales para tratar a estos pacientes, que puede exceder los 16.7 billones de dólares al año.^{10,18}

El tratamiento convencional del cuidado de la sepsis se basa en el uso de antibióticos para controlar las infecciones y cuidados suplementarios que incluyen la restauración de fluidos, vasoconstrictores y ventilación artificial. Sin embargo, dado que la mortalidad no ha disminuido a pesar de los implementos a este método, se han buscado otros tratamientos como la activación de las células blanco, los mediadores de la respuesta inflamatoria, inhibidores de la prostaglandina y agentes que estimulan el sistema inmunológico.¹⁸

Los radicales libres de oxígeno y otros ERO's actúan como mensajeros celulares para la señal de transducción y activación genética, permitiendo el control de la respuesta inmunoinflamatoria durante la sepsis. La intervención terapéutica se basa en la administración de antioxidantes que alteran la señal de transducción y producción de mediadores. Sin embargo, el bloqueo de la formación de radicales libres en pacientes con shock séptico se debe valorar debido al riesgo de elevar la presión arterial.^{10,23}

La activación incrementada del NFκB en pacientes con sepsis (asociada a mortalidad) es tratada con el antioxidante N-acetilcisteína. Ésto ha demostrado tener efectividad en la reducción de la activación del NFκB y se observa menor concentración circulante de IL-8 (regulado por la transcripción de NFκB) sin cambios en la de IL-6 ni la molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1). Los estudios experimentales realizados se basan en la administración de inhibidores de la activación de factores



de transcripción (principalmente NFκB) para disminuir la respuesta inflamatoria y disminuir el estrés oxidativo.¹⁰

La N-acetilcisteína incrementa la supervivencia tras la exposición a endotoxinas, disminuye la citocinas, la expresión de moléculas de adhesión, disminuye el estrés oxidativo e inhibe la activación NFκB. La administración con α-tocoferol no suprime la activación del NFκB, con α-tocoferol y β-caroteno reduce la peroxidación lipídica y restaura los valores de GSH, combinado con GSH reduce el estrés oxidativo, y con selenio disminuye la probabilidad de falla de algún órgano.¹⁰

La administración de vitamina C (ácido ascórbico) disminuye la adherencia, la producción de superóxidos, protege contra la perfusión microvascular, inhibe la replicación de las bacterias y disminuye el daño oxidativo. En combinación con otros antioxidantes no demuestra tener beneficios.¹⁰

La aplicación de vitamina E (α-tocoferol) a pacientes con sepsis no tiene validez significativa debido a que sólo algunos pacientes muestran niveles séricos disminuidos. Además reduce los efectos del estrés oxidativo en la sepsis, reduce la mortalidad y elimina la respuesta ante el LPS. Combinado con otros antioxidantes tiene poco efecto. La administración por vía intravenosa es un problema por las reacciones alérgicas que puede ocasionar, y por vía enteral está aún en estudio.¹⁰

La administración de albúmina incrementa los niveles plasmáticos de tioles que debido a su propiedad antioxidante sugiere su beneficio, sin embargo, los estudios por el sistema de Cochrane demuestran que administrar albúmina a pacientes con sepsis incrementa la mortalidad.²

Los agentes antioxidantes sintéticos han sido probados solamente en animales (ratas, perros y gatos). Entre ellos se encuentran el dimetil sulfoxido (DMSO), lazaroides, pírrolidine ditiocarbamate (PDTC), entre



otros. El DMSO regula la transcripción del factor activador en sepsis, inhibe la activación hepática de NFκB y la expresión del gen ICAM-1 pero, su administración es difícil debido a su propiedad solvente. Los lazaroides son fármacos 21-aminoesteroides con propiedades anti-inflamatorias y antioxidantes potentes, eliminan la sepsis inducida, aumentan el flujo sanguíneo renal al eliminar los radicales libres y alterar el metabolismo del ácido arquidónico, incrementan el flujo sanguíneo renal y preservan la función endotelial de los sinusoides. Además previenen la falla de algún órgano, y eliminan la activación de genes pro-inflamatorios mediante la inhibición de la activación del NFκB.¹⁰

Otros agentes con componentes antioxidantes y eliminadores de radicales libres son: el tempol, disminuye la falla de algún órgano; el oxidante natural (NAO, hidrosoluble purificado de la espinaca) y apocinin aumentan la supervivencia en sepsis; el dimetiltiourea disminuye la actividad de TNF y NFκB y debilita la acción eliminadora del peróxido de hidrógeno; el fenil-N-tert-butilnitrono (PBN) inhibe la inducción de la unión del NFκB al ADN mediada por el LPS, inhibiendo la inducción de la sintetasa del óxido nítrico tipo II y eliminando la expresión de citocinas proinflamatorias; el MDL (variante del PBN con mayor actividad antioxidante) disminuye la disfunción de algún órgano y la mortalidad causada por el LPS; el dihidroxiclorodihidrocarbono (DCDC) inhibe la degradación del IκBα y la activación del NFκB, disminuyendo así la producción de óxido nítrico.¹⁰

Los factores inhibidores de la transcripción no-antioxidantes inhiben al NFκB en un sitio particular de la vía de activación. Aquellos que lo inhiben en la inflamación y sepsis son la proteína C activada (drotrecogin α), oligonucleótidos antisensitivos de la unidad p65 del NFκB, esteroides, proteasas inhibitoras, péptidos D-aminoácidos, glucanos (inhiben la IL-6), péptido intestinal vasoactivo y polipéptido activador de la adenilato ciclasa pituitaria. Teóricamente en el humano



interrumpen la sobreexpresión de los mediadores inflamatorios en la sepsis.¹⁰

La proteína C es una glucoproteína dependiente de la vitamina K, que actúa como enzima, activándose en presencia de trombina unida a trombomodulina. Esta enzima, con ayuda de la proteína S (cofactor), inhibe la producción de trombina por retroalimentación, cuando hay un exceso de ella, al cortar los factores V y VIII de la coagulación. Además de sus características anticoagulantes, la proteína C inhibe la activación de los monocitos y la producción de las citocinas proinflamatorias IL-6, IL-1 y TNF-alfa, por lo que tiene una función anti-inflamatoria y profibrinolítica, bloqueando la adhesión de los leucocitos al endotelio vascular. El estudio de Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS), en el que se evalúa la actividad de la drotrecogin α , ha sido el único que muestra una disminución importante en la tasa de mortalidad a 28 días en pacientes con sepsis severa, que es de 30.8% en pacientes tratados con placebo y de 24.7% en aquellos que fueron tratados con la proteína C.^{18,24}

Otro tratamiento experimental que muestra mucha aceptación es el uso de esteroides en los pacientes con insuficiencia adrenal. En el estudio realizado se mostró una mortalidad de 40% en los pacientes que recibieron el tratamiento con esteroides, a comparación del 55.6% de aquellos que fueron tratados con placebo. A pesar de esto, aún no se sabe que pacientes pueden ser tratados con esteroides, ya que sólo se ha probado el beneficio de un pequeño subgrupo de pacientes y en aquellos que no tienen insuficiencia adrenal la mortalidad incrementó en un 8%. La sepsis severa está relacionada con una falla en el sistema hipotalámico-hipofisiario-adrenal, lo que ocasiona una disminución de cortisol. Éste juega un papel muy importante en el mantenimiento de la estabilidad hemodinámica, previniendo la respuesta inflamatoria en pacientes con sepsis. El deterioro de los glucocorticoides es causa de la



activación del NFkB e hipotensión, pero esto puede ser controlado con dosis de hidrocortisona.^{18,24}

Dado que la hiperglicemia es potenciadora de los efectos inflamatorios, incrementa el NFkB, tiene efectos protrombóticos y aumenta el *estrés oxidativo*, es importante controlarla con la insulina. Éste, además de controlar la hiperglicemia tiene propiedades inmunomodulatorias y anti-inflamatorias similares a las de los glucocorticoides.²⁴

Los inhibidores de NO aumentan la presión sanguínea, bloquean los efectos negativos inotrópicos de las citocinas y previenen la depresión miocárdica, conduciendo a una actividad anti-inflamatoria a nivel celular.²³ Existen estudios que señalan los beneficios del NO en la sepsis y hacen énfasis en que su inhibición total puede ser dañina. Sus propiedades para dilatar los capilares sanguíneos, bloquear la agregación plaquetaria y leucocitaria a las células endoteliales y eliminar superóxidos indican que la producción excesiva de NO en el shock séptico ayuda a mantener el flujo sanguíneo microvascular y protege el endotelio del estrés oxidativo y sus posibles daños. Además el NO tiene actividad antimicrobiana por influencia directa de los efectos citotóxicos en patógenos intracelulares y función inmunomoduladora (regula la producción de citocinas). En los últimos estudios realizados ha sido difícil determinar si la inhibición de NOS reduce el daño celular y previene la muerte en la sepsis o su inhibición ocasiona más daños.²³

En las ratas, los inhibidores de NOS han empeorado la vasocongestión intestinal, composición plasmática, han disminuido la perfusión renal y aumentado la infiltración de neutrófilos en el pulmón, resultando en una disminución de la supervivencia. Existe evidencia de un posible daño hemodinámico por los inhibidores de NOS. Se recomienda más el uso de inhibidores específicos para iNOS que para las tres isoformas, pero se debe controlar la actividad del iNOS por el riesgo que surge tras su inhibición. En general se debe tener precaución en el



manejo del shock séptico y los niveles de NO: tanto su producción excesiva como su inhibición contribuyen a incrementar la mortalidad en estos pacientes.²³

PROBLEMA

La sepsis abdominal representa un reto tanto en su diagnóstico como en el tratamiento temprano, se han creado varios instrumentos para medir tanto la gravedad como el pronóstico de la misma. En los últimos años se han medido algunas moléculas inflamatorias como marcadores (ej. prot C reactiva).

El estrés oxidativo es una representación de daño celular ya sea agudo o crónico y está en relación con la severidad de la respuesta sistémica. Entre los manejos propuestos para contrarrestar el efecto nocivo de un estrés oxidativo excesivo se encuentran tanto retirar el estímulo nocivo como la administración de antioxidantes.

Se desconoce el grado de estrés oxidativo que se presenta en la sepsis abdominal, no existen reportes formales al respecto, por lo que es necesario realizar estudios exploratorios, a corto y a largo plazo, para determinar tanto la presencia del mismo como su severidad y de encontrar relación proponer en estudios posteriores manejo con antioxidantes, así como para la búsqueda de marcadores directos o indirectos en la respuesta oxidativa sistémica y su relación con la comorbilidad de los pacientes.



JUSTIFICACIÓN

La severidad del daño que representa el desarrollo de sepsis abdominal ha sido abordada por la creación de instrumentos tanto clínicos como de marcadores bioquímicos, todo esto orientado a tomar decisiones para el diagnóstico y tratamiento tempranos.

Sin embargo, dada la complejidad que representa la evolución de estos pacientes, se requiere encontrar la correlación existente entre los nuevos marcadores de estrés oxidativo y los estudios bioquímicos usualmente utilizados para valorar la severidad de la sepsis.

HIPÓTESIS

El estrés oxidativo guarda una correlación directa positiva con la severidad de la sepsis abdominal.



OBJETIVOS

- I. Reportar el grado de estrés oxidativo presente en pacientes con sepsis abdominal.

- II. Reportar el mejor sitio (arterial, venoso o exudado inflamatorio) para toma de muestras para medir el estrés oxidativo en pacientes con sepsis abdominal.

- III. Identificar la existencia de correlación de algún tipo con otros marcadores bioquímicos que miden severidad de inflamación en pacientes con sepsis abdominal.



MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un diseño

- Piloto
- Observacional
- Longitudinal
- Prospectivo
- Analítico

Se ingresaron al estudio los pacientes con las siguientes características:

- Pacientes con sepsis abdominal internados en el Hospital Regional "1° de Octubre" ISSSTE, hospitalizados en el servicio de Cirugía General o Urgencias Adultos durante el periodo de enero a abril, 2005; definiendo **sepsis abdominal** como la *respuesta inflamatoria sistémica originada por un foco infeccioso intraabdominal*.
- Que el paciente (o su familiar responsable) esté de acuerdo en ingresar al protocolo de estudio, demostrando su conformidad firmando la carta de consentimiento informado
- Pacientes cuyo manejo quirúrgico sea realizado exclusivamente en este hospital
- Pacientes que no padezcan enfermedades pro-estrés oxidativo

Se excluyeron del estudio:

- Pacientes que durante las últimas semanas (2) hubieran ingerido medicamentos antioxidantes (vitamínicos)



- Pacientes que se encontraban bajo programas de entrenamiento físico intenso o que hallan realizado ejercicio físico extenuante durante la última semana
- Pacientes ostomizados
- Pacientes con tabaquismo intenso (15 cigarrillos/día)
- Pacientes con etilismo (más de 3 copas al día)
- Pacientes cuya muestra arterial o venosa se encontrara con datos macroscópicos de hemólisis.

Se ingresaron al estudio aquellos pacientes que vistos por primera vez en nuestro Hospital en los que el servicio de cirugía general haya establecido el diagnóstico de probable sepsis abdominal, solicitándose al paciente o al familiar su autorización y firma en el consentimiento informado para ser incluido en este protocolo.

Los estudios solicitados en estos pacientes fueron: biometría hemática, química sanguínea, electrolitos séricos, tiempos de coagulación, gasometría, pruebas de funcionamiento hepático, tomados por laboratorio de urgencia. Se programó la determinación de proteína C reactiva y dímero D para el día siguiente.

Se sometieron a cirugía a todos los pacientes. Al realizarse la laparotomía exploradora se tomó una muestra de aproximadamente 10 ml del líquido encontrado en la cavidad abdominal (en caso de que hubiera), para remitirlo al laboratorio de investigación de estrés oxidativo de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional.

Una vez egresado de quirófano y durante las 2 hr posteriores a la cirugía se tomaron muestras de sangre (arterial y venosa, aproximadamente 10 ml cada una) en tubo seco. Se dejaron reposar a temperatura ambiente por un lapso de 30 min y posteriormente se centrifugaron, tomándose el suero obtenido y colcándose en tubos EPENDORF los cuales se mantenían en congelación hasta ser llevados al



laboratorio con la rotulación adecuada del tubo y la tapa con el número correspondiente de cada paciente. Se transportaron durante las 24 hr siguientes a su obtención, al laboratorio de investigación de estrés oxidativo de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, en thermo con congelante, donde se colocaban en refrigerador REPCO a -70°C a -80°C para posteriormente procesar *nitritos* como marcadores de estrés oxidativo.

Para la determinación de nitritos, se utilizó el **método de Greys**, con los siguientes puntos:

A. Curva Estándard

1. Reactivos

- NaNO_2 utilizándolo a las siguientes concentraciones en forma progresiva:

0.069g/mL	0.05175 $\mu\text{g/mL}$
6.9 $\mu\text{g/mL}$	0.0345 $\mu\text{g/mL}$
5.175 $\mu\text{g/mL}$	0.0173 $\mu\text{g/mL}$
3.45 $\mu\text{g/mL}$	0.0069 $\mu\text{g/mL}$
1.73 $\mu\text{g/mL}$	0.005175 $\mu\text{g/mL}$
0.69 $\mu\text{g/mL}$	0.00345 $\mu\text{g/mL}$
0.5175 $\mu\text{g/mL}$	0.00173 $\mu\text{g/mL}$
0.173 $\mu\text{g/mL}$	0.00069 $\mu\text{g/mL}$
0.069 $\mu\text{g/mL}$	

Por triplicado alícuotas de 250 μl

- Sulfanilamida 1% (p/v) en H_3PO_4 5% (v/v)
- N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida 0.1% (p/v) en H_3PO_4 5% (v/v)

Con estas diluciones, se midió la absorbancia de las siguientes concentraciones de nitrato de sodio para realizar



una curva control. Se tomó 250 μ L de cada una de las concentraciones anteriores

2. Aplicar 50 μ l de Sulfanilamida a 250 μ l de H₂O bidestilada (blanco) e inmediatamente después 50 μ l de N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida agitar, 1 min. después de la aplicación de la N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida leer la A_{554} como blanco.
3. Aplicar 50 μ l de Sulfanilamida a 250 μ l de NaNO₂ e inmediatamente después 50 μ l de N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida agitar, 1 min. después de la aplicación de la N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida leer la A_{554} de la muestra, y calcular la $F(x)=\text{abs. vs. Concentración}$.

B. Determinación de nitritos

1. Agregar 40 μ l de E. coli 1775 por tubo. Se incubó 1 hora a 37°C a 100rpm.
2. Se centrifugó a 3,000 rpm por 5 minutos, se agregan 250 μ l del sobrenadante en la celda de lectura, aplicar 250 μ l de Sulfanilamida a 250 μ l de NaNO₂ e inmediatamente después 250 μ l de N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida agitar, 1 min. después de la aplicación de la N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida leer la A_{554} de la muestra.

Con esta técnica se trató a cada una de las muestras (cada una por triplicado), se obtuvieron las medias de cada triplicado y posteriormente las medias de cada uno.



RESULTADOS

En el estudio se incluyeron 19 pacientes, 8 mujeres, 11 hombres, los cuales fueron tratados por primera vez en el Hospital Regional "1° de Octubre" y diagnosticados como sepsis abdominal en un periodo comprendido entre el 20 de enero y el 6 de mayo del 2005.

Las edades de los pacientes fluctuaron entre 15 y 82 años con un promedio de 55.26. Los pacientes estuvieron hospitalizados en promedio 17.50 días, con un rango de 3 a 48 y una desviación estándar 14.33 (cuadro 1).

Cuadro 1. Características basales de los pacientes

Parámetro	Frecuencia (n=19)
Edad	55.3 ± 24.5
Sexo	
Hombres	11 (57.9%)
Mujeres	8 (42.1%)
Escolaridad	
Analfabeto	1 (5.3%)
Alfabetizado	2 (10.5%)
Primaria	6 (31.6%)
Secundaria	3 (15.8%)
Preparatoria	5 (26.3%)



Parámetro	Frecuencia (n=19)
Licenciatura	1 (5.3%)
Ocupación	
Jubilado	3 (15.8%)
Hogar	7 (36.8%)
Estudiante	3 (15.8%)
Maestro	1 (5.3%)
Secretario	1 (5.3%)
Empleado de gobierno	2 (10.5%)
Comerciante	1 (5.3%)
Estado civil	
Soltero	5 (26.3%)
Casado	5 (26.3%)
Viudo	6 (31.6%)
Unión libre	1 (5.3%)
Tabaquismo	
Ausente	11 (57.9%)
Menos de 15 cigarrillos/día	6 (31.6%)
Más de 15 cigarrillos/día	0
Comorbilidad	
Ausente	7 (36.8%)
DM2 + HAS	5 (26.3%)
DM2 + dislipidemia	1 (5.7%)
DM2 + HAS + dislipidemia	1 (5.7%)
HAS + parkinson	1 (5.7%)
Hipotiroidismo	1 (5.7%)
Hiperuricemia controlada	1 (5.7%)
Alérgico a penicilina	1 (5.7%)
Ejercicio Realizado	
Ausente	17 (89.5%)
Ejercicio leve ocasional	1 (5.7%)
Entrenamiento formal	0



DM2 = Diabetes Mellitus 2
HAS = Hipertensión Arterial Sistémica

Los diagnósticos encontrados en orden de frecuencia fueron: apendicitis, oclusión intestinal y perforación de víscera hueca (cuadro 2).

Cuadro 2. Diagnósticos principales

Diagnóstico	Número de pacientes (n= 19)
Apendicitis complicada	7 (36.8%)
Oclusión intestinal	4 (21.1%)
Perforación de víscera hueca	3 (15.8%)
Pancreatitis	2 (10.5%)
Trombosis mesentérica	1 (5.3%)
Absceso hepático	1 (5.3%)
Peritonitis primaria	1 (5.3%)

Se monitorizó el estado de salud de los pacientes para determinar la gravedad y severidad de la sepsis, de acuerdo dos parámetros (cuadro 3):

- Índice de peritonitis de Mannheim: se encontró un promedio de 20.61 puntos, la puntuación mayor fue de 37 y la menor de 4.
- APACHE II: tuvo una puntuación mayor de 26 con un mínimo de 5, teniendo un promedio de 14.89 con una desviación estándar de 6.53.



Cuadro 3. estado sepsis de los pacientes

Parámetro	Promedio \pm DE
Índice de Peritonitis de Mannheim	20.61 \pm 8.71 (Rango: 4 – 37)
APACHE II	14.89 \pm 6.53 (Rango: 5 – 26)
Frecuencia Cardíaca (latidos por minuto)	93.50 \pm 18.49
Frecuencia respiratoria (respiraciones por minuto)	24.56 \pm 5.74
Presión arterial sistólica (mmHg)	113.33 \pm 26.73
Presión arterial diastólica (mmHg)	69.44 \pm 19.84
Presión arterial media (mmHg)	86.061 \pm 20.969
Temperatura (grados centígrados)	37.139 \pm 1.145
Hemoglobina (g/dL)	12.511 \pm 3.837
Hematocrito (%)	37.811 \pm 9.865
Leucocitos (células/mm ³)	12.911 \pm 7.105
Neutrófilos (%)	84.01 \pm 10.203
Bandas (%)	2.56 \pm 4.16
Plaquetas (cel/mm ³)	251 \pm 131.48
Glucosa (mg/dL)	189.89 \pm 106.97
Creatinina (mg/dL)	1.28 \pm 0.702
Urea (mg/dL)	60.31 \pm 54.24
BUN (mg/dL)	26.67 \pm 24.76
Sodio (mEq/L)	141.67 \pm 5.88
Potasio (mEq/L)	4.10 \pm 1.04
Proteínas totales (g/dL)	6.14 \pm 1.40
Albúmina sérica (g/dL)	3.26 \pm 1.20
Linfocitos totales (células/mm ³)	1004.56 \pm 615.91
pH	7.362 \pm 7.928
Presión arterial de oxígeno (mmHg)	93.756 \pm 56.445
Saturación de oxígeno (%)	90.82 \pm 10.06



Parámetro	Promedio \pm DE
Bicarbonato sérico (mEq/L)	16.66 \pm 4.15
Tiempo de protrombina (segundos)	14.95 \pm 2.61
INR	1.35 \pm 0.29
Tiempo parcial de tromboplastina (segundos)	40.85 \pm 26.16
Fibrinógeno (mg/dL)	540.64 \pm 215.88

Al reagrupar a los pacientes de acuerdo al índice de peritonitis de Mannheim y la mortalidad, encontramos que 9 pacientes estaban en el porcentaje con mortalidad de 2.3%, 6 pacientes con mortalidad de 22.5% y 3 con mortalidad de 59%.

Con relación a la glucemia los niveles de ésta fueron más altos en aquellos pacientes con mortalidad de 22.5% comparados con los de 2.3% y de 59% (305.67 \pm 27.07 mg/dL, 129 \pm 26.12 mg/dL y 141 \pm 20.2 mg/dL respectivamente; $p < 0.005$).

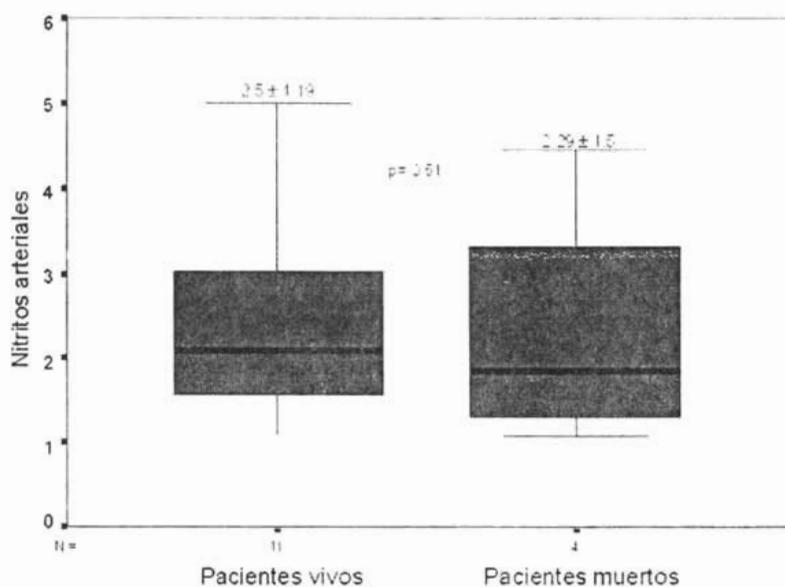
Se obtuvieron resultados de la concentración y la absorbancia de los nitritos de las muestras arteriales y venosas de 15 pacientes. Se excluyeron 4 pacientes, todos ellos hombres, por presentar alteraciones en la muestra arterial o venosa que no permitieran realizar adecuadamente la determinación de nitritos (hemólisis). No se realizaron determinaciones en las muestras de líquido abdominal porque las muestras obtenidas presentaron una densidad demasiado alta para ser leída adecuadamente por el espectrofotómetro. Los valores de nitritos encontrados en las muestras arteriales fue en promedio 2.41 ± 1.22 , en las muestras venosas fue de 3 ± 1 , sin encontrarse diferencia significativa estadísticamente al realizar análisis comparativo.



Cuadro 4. Estado de estrés oxidativo de los pacientes

Parámetro	Promedio \pm DE	Rango
Nitrito arterial ($\mu\text{g/mL}$)	2.4184 ± 1.2266	1.0683 – 4.9892
Nitrito venoso ($\mu\text{g/mL}$)	3.0011 ± 1.0095	1.01 – 4.8489

Figura 1. Relación de nitritos y mortalidad





DISCUSIÓN

El estrés oxidativo es una condición en la que hay una mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno que antioxidantes, tales como las vitaminas liposolubles (E, A o β -caroteno) o hidrosolubles como la Vitamina C, o algunas enzimas como la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, ya sea por el exceso de producción de los primeros o la falta de producción de los segundos y se ocasiona daños especialmente en pacientes en estado crítico.^{1,2,3,4}

Las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo son shock séptico, sepsis, shock cardiogénico, coagulación intravascular diseminada, enfermedad cardiovascular, quemaduras, fatiga diafragmática, diabetes mellitus, trauma, enfermedad pulmonar crónica obstructiva, heridas, reperfusión isquémica y cáncer. Algunos síndromes asociados al estrés oxidativo son el síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA), infección por el virus de inmunodeficiencia humana, de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), de disfunción orgánica múltiple (SDOM).^{1, 3, 4}

Se ha observado que la hiperglicemia contribuye al estrés oxidativo con la formación de ERO's con la autooxidación de la glucosa, y deprime las defensas naturales antioxidativas.^{3,4} En el caso de nuestros pacientes, al hacer el análisis según el índice de peritonitis de Mannheim, nos llama la atención que el grupo de riesgo moderado para mortalidad, son los que presentan niveles más altos de glucemia, lo que fue estadísticamente significativo.



Las células endoteliales responden a la isquemia inducidas por las endotoxinas, citocinas, adherencia neutrófila y acidosis para la formación de xantina oxidasa que es responsable de la formación de $O_2^{\bullet-}$ en la reperfusión. En los pacientes con quemaduras extensas, se observa un aumento en la actividad de proteínas prooxidantes como la superóxido dismutasa, la elastasa, la catalasa y la enzima FLA₂.⁸

En nuestros pacientes llama la atención que el marcador de estrés oxidativo fue menor en aquéllos que murieron, lo que va en contra de lo descrito por otros autores.¹ Lo anterior puede ser explicado por el tamaño muestral.



CONCLUSIONES

El estrés oxidativo guarda una relación proporcional al grado de sepsis abdominal encontrado en los pacientes, por lo que se puede encontrar en este punto una línea de investigación para determinar una serie de factores relacionados a su relación, a su gravedad y al momento en que se pudiera comenzar tratamiento antioxidante.

Al realizar un análisis univariado al comparar la mortalidad contra el promedio de nitritos arteriales, este fue de 2.46 ± 1.42 contra 2.29 ± 1.5 , sin demostrar diferencia significativa estadísticamente con $p=0.5$, por lo que no se puede concluir que los pacientes que fallecieron tuvieron menos nivel de estrés oxidativo.

Esta falta de significancia estadística representa el tamaño muestral limitado, aunque clínicamente su traducción pudiera ser que en el paciente que fallece la generación de oxidantes está tan limitada que se trate una expresión de la falla orgánica severa presentada por los pacientes.

Este estudio se deberá complementar investigando si existen subgrupos de pacientes con diferentes manifestaciones en la respuesta oxidativa o si la sepsis de acuerdo al grado de avance de la misma modifica la respuesta oxidativa, realizando análisis de la información obtenida para determinar si la comorbilidad influye en la respuesta oxidativa. Y además, se abre una línea de investigación para determinar si el estrés oxidativo en inflamación (respuesta tanto celular como humoral) tiene diferente comportamiento dependiendo de la etiología de la misma.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. **Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs.** Crit Care Med 2001; 29: 1303-10.
2. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. **Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis.** Chest 1992; 101: 1644-55.
3. Hotchkiss RS, Karl IE. **The pathophysiology and treatment of sepsis.** N Eng J Med 2003; 348: 138-150.
4. Chávez-Pérez JP. **Sepsis abdominal.** Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int 2002; 16: 124-135.
5. Wheeler AP, Bernard GR. **Treating patients with severe sepsis.** N Eng J Med 1999; 340: 207-14.
6. Barlett JG. **Sepsis intraabdominal.** Med Clin North Am 1995; 79: 595-612.
7. Shands JW. **Empiric antibiotic therapy of abdominal sepsis and serious perioperative infections.** Surg Clin North Am 1993; 73: 291-306.
8. Malangoni MA. **Evaluation and management of tertiary peritonitis.** Am Surg 2000; 66: 157-61.
9. Goodyear-Bruch C, Pierce JD. **Oxidative stress in critically ill patients - CE Article.** American Journal of Critical Care 2002 (11): 543-571
10. Macdonald J, Galley HF, Webster NR. **Oxidative stress and gene expression in sepsis.** Br J Anaesth: 2003 Feb; 90(2):221-32.
11. Bulger EM, Maier RV. **Antioxidants in critical illness.** Arch Surg 2001. 36: 1201-8.
12. Oldham KM, Bowen PE. **Oxidative stress in critical care: Is antioxidant supplementation beneficial?** American Dietetic



Association. Journal of the American Dietetic Association. Chicago: Sep 1998. Vol. 98, Iss. 9; pg. 1001-8.

13. Borovic S, Meinitzer A, Loncaric I, Sabolovic S, Wildburger R, Tillian M, et al. **Monitoring influence of surgical stress on formation of hydroxyl radicals in tumor bearing rats by measuring salicylic acid metabolites.**
14. Larrondo-Muguercia H, León-Pérez R. **Estrés oxidativo y sepsis** Rev Cubana Invest Biomed 2000; 19:199-201.
15. Guo RF, Riedemann NC, Laudes IJ, Sarma VJ, Kunkel RG, Dilley KA, et al. **Altered neutrophil trafficking during sepsis** The Journal of Immunology 2002; 126: 307-314.
16. Sánchez-Álvarez R, López-Janer N, Leyva L, Albuérne Y, Broche-Valle F, Peña-Sánchez M, et al. **Caracterización de indicadores bioquímicos de estrés oxidativo en pacientes quemados muy graves** Rev Cubana Invest Biomed 2000; 19: 164-67.
17. Barreiro E, Comtois AS, Mohammed S, Lands LC, Hussain SN. **Role of heme oxygenases in sepsis-induced diaphragmatic contractile dysfunction and oxidative stress.** Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2002; 283: 476-84.
18. Wesley-Ely E, Kleinpell RM, E Goyette R. **Advances in the understanding of clinical manifestations and therapy of severe sepsis: An update for critical care nurses.** Am J Crit Care 2003; 12: 120-136.
19. Pritts T, Hungness E, Wang Q, Robb B, Hershko D, Hasselgren P. **Mucosal and enterocyte IL-6 production during sepsis and endotoxemia-role of transcription factors and regulation by the stress response.** Am J Surg 2002; 183: 372-383.
20. Arnalich F, López-Maderuelo D, Codozeo R, Solis Garrido M, Capiscol C, Fernández-Capitán C, et al. **Interleukine-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis.** Clin Exp Inmunol 2002; 127: 331-336.
21. Nadel S. **Helping to understand studies examining genetic susceptibility to sepsis** Clin Exp Inmunol 2002; 127: 191-192.



22. Skidgel RA, Gao X, Brovkovich V, Rahman A, Jho D, Predescu S, et al. **Nitric oxide stimulates macrophage inflammatory protein-2 expression in sepsis.** *The Journal of immunology* 2002; 169: 2093-2101.
23. Cobb JP, Danner RL. **Nitric oxide and septic shock.** *JAMA* 1996; 275: 1192-7.
24. **Steroids and drotrecogin alfa (activated) for severe sepsis.** *Chest* 2003; 124: 2033.

**-ANEXO 1**
**MEDICIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO
EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL
(ESTUDIO PILOTO)**

Paci: _____

APACHE II

	4	3	2	1	0	1	2	3	4
TEMP RECTAL	>41	40.9-39		38.9-38.5	36.5-38.9	34-35.9	32-33	30-31.9	30-31.9
TA	>160	130-159	110-130		70-109		55-89		<49
FC	>189	149-179	110-139		70-109		55-89	40-54	<39
FR	>50	95-49		25-34	12-24	10-11	6-9		<5
O2FIO2 >50%	>500	350-499			<200				
FaO2 <50 PaO2					>70	61-70		55-60	<55
PH	>7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.39	7.15-7.24	>7.15
Na	180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	<110
K	>7	6-6.5		5.5-6.9	3.5-6.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Creatinina	>3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hct	>60		50-59	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
Leucos	>40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
GLASGOW	3	4-6	7-9	10-12	13-15				
Total									

Edad		Patología Previa	a. PROMEDIO FISIOLÓGICO AGUDO _____ b. PUNTOS POR EDAD _____ c. PATOLOGÍA PREVIA _____
EDAD PUNTOS			
44 A	0	PATOLOGÍA CRÓNICA, AGUDA O CIRUGÍA DE URGENCIAS AGREGAR 5 PUNTOS	
45-54 A	2		
55-64 A	3		
65-74 A	5	CIRUGÍA ELECTIVA: AGREGAR 2 PUNTOS	
>75*	6		

Nombre _____ Cama _____

Fecha _____ Núm de Paciente _____



ANEXO 2

MEDICIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO
EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL
(ESTUDIO PILOTO)

ÍNDICE DE PERITONITIS DE MANNHEIM

Factores de Riesgo	Puntaje	Paciente
Edad > 50 años	5	
Sexo femenino	5	
DOM	7	
Malignidad	4	
Duración preoperatoria >24hr con infección	4	
Origen de sepsis no colónica	4	
Peritonitis difusa generalizada	6	
Exudado: Claro	0	
Purulento	6	
Fecal	12	

Puntaje	Mortalidad
<21	2.3% (variación 0-11%)
21-29	22.5% (variación 10.6-50%)
> 29	59% (variación 47-87%)

Nombre _____ Cama _____

Fecha _____ Núm de Paciente _____

Índice de Peritonitis de Mannheim _____



ANEXO 3a

MEDICIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO
EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL
(ESTUDIO PILOTO)

Pacif: _____

Nombre: _____

Sexo: _____ Edad: _____ Exp: _____ Escolaridad: _____ Ing Protocolo: _____

Ocupación: _____ d: _____

Edo Civil: _____ Originario: _____

Residencia: _____

Diagnóstico: _____

Ingreso urg: _____ Ing Piso: _____ Fecha y causa alta: _____

Cirugía realizada _____

Resumen: _____

Hallazgos: _____

Dirección: _____

Ciudad: _____ Estado: _____ Tel: _____



ANEXO 3b

Día			
Prot C reac			
Dímero D			
Di-Tirosin			
El otro			
Apache II			
Sepsis Abd			
FC/FR			
TAM/T°			
Hb/HcT			
Leucos			
Neutr/Ban			
Plt			
Gluc			
Cr/Urea			
BUN			
Na/K			
Prot/alb			
Linf totales			
pH			
PaO ₂			
HCO ₃			
Lactato			
TP			
TPT			
Fibrinógeno			



ANEXO 4a

MEDICIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL (ESTUDIO PILOTO)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

La sepsis abdominal representa una infección dentro de su abdomen que requiere para su manejo de intervención quirúrgica y apoyo complementario con tratamiento médico. Para su diagnóstico es necesario contar con criterios clínicos y de laboratorio que orientan al cuerpo médico a tomar decisiones.

En la actualidad de manera rutinaria se toman algunos resultados de laboratorio que reflejan la severidad de esta infección. Existen otras alteraciones que habitualmente no son medidas como la presencia de derivados del oxígeno que intentan atacar a los agentes agresores, esto se conoce en parte como estrés oxidativo, cuyos marcadores solamente se pueden medir en laboratorios especiales de investigación para ello.

El presente trabajo intenta medir estas moléculas y poder establecer si se relacionan con la severidad de la sepsis abdominal, pues esta información pudiera -en un futuro- establecer si existe un parámetro que favorezca la toma de decisiones en el diagnóstico o tratamiento.

Para esto requerimos de tomar una muestra de líquido que podemos encontrar dentro de su abdomen durante la cirugía, así como de 10 ml de sangre (2 cucharadas soperas) tanto de su arteria como de su vena en diversas ocasiones. Los riesgos por esta toma de muestra, son la aparición de moretones, sangrado alrededor del sitio de punción y en el peor de los casos daño a la arteria que pueda requerir su reparación.

La sangre no será utilizada más que con los fines de medir el estrés oxidativo y será procesada en un laboratorio de investigación de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional y en ningún momento serán utilizadas para la clonación o estudios genéticos.

Cabe hacer notar que si usted decide separarse de este protocolo de investigación de ninguna manera cambiará su manejo médico/quirúrgico establecido. Además, si decide usted



ANEXO 4b

retirarse y solicita que se destruyan sus muestras de sangre, esto se realizará a más tardar dentro de las siguientes 72 hr.

Este protocolo ha sido autorizado por el Comité de Ética del Hospital General Regional "1º de Octubre" ISSSTE. Para cualquier duda acerca de este protocolo usted puede contactar con: Dra. Clara D. Padilla Martínez o con el Comité de Ética, en el Hospital General Regional "1º de Octubre", Avenida Instituto Politécnico Nacional 1669, Col. Magdalena de las Salinas, teléfono (55)5586 60 11 ext 186.

*Posteriormente a la lectura de esta carta de consentimiento,
autorizo se me tomen las muestras (de líquido abdominal
y de sangre arterial y venosa) las ocasiones que sean requeridas.*

Fecha: _____

Nombre y Firma del Paciente
o Familiar Responsable

Nombre y Firma
Testigo 1

Nombre y Firma
Testigo 2

I

Dra. Clara D. Padilla Martínez
Residente de Cirugía General
Investigador Responsable

Dr. Gerardo de Jesús Ojeda Valdés
Médico Adscrito de Cirugía General
Investigador Asociado

MEDICIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL
CONSENTIMIENTO INFORMADO PÁGINA 2 DE 3



