



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA DEL ESTADO DE SONORA
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO
“Dr. Ernesto Ramos Bours”

**“Determinación de Procalcitonina (PCT) sérica en pacientes con
sepsis de origen quirúrgico”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN
MEDICINA INTERNA**

PRESENTA

DR. EDGAR ALLÁN CASTILLO LÓPEZ

ASESOR

DR. ROBERTO CARVAJAL RAMOS



HERMOSILLO, SONORA

AGOSTO DEL 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES
DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA DEL ESTADO DE SONORA
HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO
“Dr. Ernesto Ramos Bours”

**“Determinación de Procalcitonina (PCT) sérica en pacientes con
sepsis de origen quirúrgico”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN
MEDICINA INTERNA**

PRESENTA.

DR. EDGAR ALLÁN CASTILLO LÓPEZ

ASESOR

DR. ROBERTO CARVAJAL RAMOS

MÉDICOS COLABORADORES:

Dr. Enrique Guillermo López Ramos

Dra. Gladys Eugenia García Gamez

Dr. Pedro Gutiérrez Contreras

HERMOSILLO, SONORA

AGOSTO DEL 2007

**HOSPITAL GENERAL DEL ESTADO DE SONORA
"DR ERNESTO RAMOS BOURS"**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

**DR. JOAQUÍN SÁNCHEZ GONZÁLEZ
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN**

**DR. MAURICIO BELTRÁN RASCÓN
JEFE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA**

**DR. HUGO PEÑA RÍOS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE MEDICINA INTERNA
TUTOR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA**

**DR. ROBERTO CARVAJAL RAMOS
ASESOR DE TESIS**

**MTO. MIGUEL NORZAGARAY MENDIVIL
ASESOR METODOLÓGICO**

**DR. EDGAR ALLÁN CASTILLO LÓPEZ
RESIDENTE DE CUARTO AÑO DE MEDICINA INTERNA**

DEDICATORIA

A Dios, por cruzar en mi camino a una mujer tan maravillosa, Carmen (*mi esposa*), que me ha dado su amor, comprensión y apoyo para alcanzar juntos la felicidad con la que hoy contamos. Así mismo, gracias Dios, por darme al ser que más amo, Galia (*mi hija*), jamás imaginé lo que es un amor tan puro e incondicional hasta que te tuve en mis brazos. Sin ustedes a mi lado la meta que hoy concluye no sería tan afable. Todo lo que he logrado hasta el momento es con la finalidad de darles una vida mejor y ningún obstáculo es lo suficientemente grande como para abatirme mientras las tenga a mi lado. Son todo lo que siempre quise tener.

A mi padre "*Marco*" por sus grandes enseñanzas, ejemplo de vida, apoyo incondicional y amor brindado. Jamás podré agradecerte con unas simples palabras todo lo que has hecho por mí; sin embargo, tal como me comentaste un día "*Hijo, ya me lo pagarás haciendo lo mismo con tus hijos*" y te aseguro que así lo haré. Pocas veces te lo he dicho, pero nunca dudes que te amo papá.

A mi madre "*Elizabeth*" por su gran amor, paciencia, comprensión, apoyo, delicadeza y calidad humana encontradas en una misma persona. Gracias por tus sabios consejos y orientación para viajar en los truncados caminos de la vida. Siempre serás la luz que en una gran oscuridad me orientarán hacia donde dirigirme. No hay un solo día que no estés en mi mente.

A mi hermano "*Tony*", puesto que gracias a él aprendí a compartir y escuchar cuando alguien lo necesita. Por sus regaños ocasionales, momentos compartidos e inolvidables aventuras. Desconozco el sentir respecto a tener más hermanos, pero tú cumples todo lo que se necesita para ser el mejor. Eres un ejemplo de fortaleza, tenacidad y ecuanimidad.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros, por las enseñanzas compartidas tanto de la vida cotidiana como de la vida profesional.

Al personal Directivo, Enfermería, Trabajo Social, Radiología, Camilleros, Intendencia, personal Administrativo e Informática, ya que por su trabajo en conjunto me permitieron alcanzar la meta que hoy concluyo.

A mis compañeros Residentes de Medicina Interna por permitirme aprender de ustedes y junto con ustedes.

A mis compañeros Residentes de las demás especialidades por las enseñanzas compartidas y momentos agradables que pasamos juntos.

A todos los médicos Internos que tuvieron su rotación durante mi formación como Médico Internista.

A los pacientes que hicieron, de forma consciente o inconsciente, posible mi aprendizaje de especialidad en la ciencia más apasionante en el mundo: *La Medicina*.

ÍNDICE

	Página
Resumen_____	6
Dedicatoria_____	7
Agradecimientos_____	8
Capítulo I.	
<i>Marco Teórico</i>	
1.1 Definiciones_____	9
1.2 Epidemiología_____	10
1.3 Patogenia y Fisiopatología_____	11
1.4 Etiología_____	17
1.5 Cuadro Clínico_____	19
1.6 Diagnóstico y Diagnóstico Diferencial_____	20
1.7 Pronóstico_____	23
1.8 Tratamiento_____	23
1.9 Biosíntesis de la Procalcitonina_____	26
1.10 Métodos de Determinación de Procalcitonina_____	29
1.11 Niveles Séricos de Procalcitonina e Implicaciones_____	29
Diagnóstico-Terapéuticas	
1.12 Utilidad clínica de la Determinación de Procalcitonina_____	30
Capítulo II.	
<i>Material y Métodos</i>	
2.1 Problema_____	34
2.2 Hipótesis	
2.2.1 Nula_____	34
2.2.2 Alterna_____	34
2.3 Objetivos	
2.3.1 Primarios_____	35
2.4 Justificación_____	35
2.5 Diseño del Estudio	
2.5.1 Tipo de Investigación_____	35
2.5.2 Grupo de Estudio_____	35
2.5.3 Tamaño de la Muestra_____	35
2.5.4 Criterios de Inclusión_____	35
2.5.5 Criterios de Exclusión_____	36
2.5.6 Criterios de Eliminación_____	36
2.6 Fases de la Investigación	
2.6.1 Diagnóstico de Sepsis_____	36
2.6.2 Determinación de Procalcitonina Sérica_____	36
2.6.3 Intervención Quirúrgica_____	37

2.6.4 Recolección de Datos	37
2.6.5 Análisis de Resultados	37
2.6.6 Revisión por Asesores	37
2.6.7 Impresión de Tesis	37
2.7 Análisis de Datos	
2.7.1 Estadística	38
2.8 Recursos Humanos	38
2.9 Recursos Materiales	38
2.10 Recursos Financieros	38
2.11 Aspectos Éticos	38
2.12 Calendario de Actividades	39
2.13 Resultados	
2.13.1 Características del Grupo de Estudio	39
2.13.2 Análisis Descriptivo de la Variables	
2.13.2.1 Edad	39
2.13.2.2 Sexo	39
2.13.2.3 Signos Vitales	39
2.13.2.4 Cuenta de Leucocitos Totales	40
2.13.2.5 Procalcitonina Sérica	41
2.13.2.6 Defunciones	41
2.13.2.7 Cultivos	41
Capítulo III.	
<i>Discusión</i>	42
Capítulo IV.	
<i>Conclusiones</i>	43
Capítulo V.	
<i>Anexos</i>	
5.1 Gráficas	44
5.2 Hoja de Vaciamiento de Datos	48
Capítulo VI.	
<i>Bibliografía</i>	53

DETERMINACIÓN DE PROCALCITONINA (PCT) SÉRICA EN PACIENTES CON SEPSIS DE ORIGEN QUIRÚRGICO

Introducción.

Dado el elevado número de pacientes que ingresan a la UCI (*Unidad de Cuidados Intensivos*) con diagnóstico de sepsis y sobre todo la elevada mortalidad asociada cercana al 50% es de suma importancia el desarrollar estrategias diagnósticas tempranas para evitar la alta orbi-mortalidad. Hasta el momento, los estudios realizados respecto al uso de la procalcitonina (PCT) tan solo se limitan a casos de pacientes con sepsis de origen no quirúrgico (*neumonía, pancreatitis, infecciones de vías urinarias, entre otras*) o en pacientes pediátricos; es por ello, que surge la interrogante que da origen al presente estudio.

Objetivo.

Determinar si la procalcitonina sérica tiene una sensibilidad y especificidad adecuada para el diagnóstico de sepsis de origen quirúrgico en pacientes adultos.

Material y Métodos.

Pacientes que ingresaron a la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital General del Estado durante el periodo del mes de Marzo del 2006 a Diciembre del 2006 con el diagnóstico de sepsis asociada a padecimiento potencialmente quirúrgico.

Resultados.

Se obtuvo una sensibilidad y especificidad del 82% y 75% respectivamente, lo cual nos orienta hacia considerar a este marcador serológico de sepsis como un buen método de estudio inicial en pacientes con sepsis de origen quirúrgico.

Conclusión.

La determinación de procalcitonina sérica en el servicio de Urgencias y UCI es un estudio apropiado para el abordaje diagnóstico y decisión terapéutica, por lo cual deberá evaluarse su utilidad en estudios posteriores (*sobre todo de tipo administrativo*) para estandarizar su uso en este Hospital.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 DEFINICIONES

Previo a la conferencia de consenso de 1992, un problema habitual en la práctica clínica era la falta de precisión a la hora de definir conceptos como: *bacteremia*, *septicemia*, *sepsis*, *sepsis grave*, *choque séptico*. Es importante clarificar estos términos para poder establecer un diagnóstico precoz y, según el estadio evolutivo del síndrome, con ello definir las diferentes pautas de tratamiento encaminadas a disminuir la morbilidad y mortalidad de esta patología.¹

Bacteremia. Es la presencia de bacterias viables en la sangre; la presencia de virus, hongos o parásitos recibe el nombre de viremia, fungemia y parasitemia, respectivamente. Puede ser debida a la existencia de un foco infeccioso en algún lugar del organismo, o bien, en otras ocasiones, diferentes circunstancias pueden provocar un paso transitorio de microorganismos al torrente circulatorio (extracciones dentarias, instrumentaciones realizadas con fines diagnósticos o terapéuticos o, incluso, el simple cepillado de los dientes).²

Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS). Es una reacción inflamatoria generalizada que puede ser de causa infecciosa, pero que también puede darse en otros procesos como: pancreatitis, isquemia, quemaduras, hemorragias, enfermedades autoinmunes o politraumatismos. El SRIS se manifiesta con dos o más de los siguientes signos: **a)** Temperatura central superior a 38 °C o inferior a 36 °C; **b)** Frecuencia cardíaca superior a 90 latidos/min.; **c)** Frecuencia respiratoria superior a 20 respiraciones/min. ó Pa_{CO2} inferior a 32 mm de Hg; (sin embargo, otros autores comentan una frecuencia respiratoria mayor de 24 por minuto),³ y **d)** Recuento leucocitario con más de $12 \times 10^9/L$ o menos de $4 \times 10^9/L$, o fórmula blanca con más del 10% de formas jóvenes.²

Septicemia. Es un término ambiguo que se ha venido utilizando en el pasado para designar la bacteriemia o la sepsis. Es por ello que en la actualidad se recomienda eliminarlo.¹

Sepsis. SRIS debido a una infección. Requiere la presencia de dos o más criterios de SRIS y deberse a infección o sospecha de la misma.²

Sepsis grave. Sepsis que cursa con alteración de la perfusión orgánica y uno o más de los siguientes signos: *acidosis láctica* (superior a 2 mmol/L), *oliguria* (inferior a 30 mL/h) o *alteraciones mentales agudas* (agitación, confusión, obnubilación).²

Choque séptico. Es la sepsis que cursa con hipotensión, a pesar de una correcta expansión de volumen y con trastornos de la perfusión orgánica. Los pacientes que reciben fármacos inotrópicos o aminas presoras pueden no estar hipotensos, pero continúan presentando alteraciones en la perfusión de algún órgano. La expresión "*choque séptico refractario*" se emplea para designar al estado de choque que dura más de 1 h y no responde a la restitución de líquidos o a las aminas vasoactivas, aunque no implica irreversibilidad.²

Síndrome de disfunción multiorgánica (Falla orgánica múltiple). Afección de diferentes órganos en un paciente agudo grave, en el que la homeostasis sólo puede mantenerse mediante intervención médica. Se trata de un patrón de signos y síntomas progresivos, que conduce a la insuficiencia orgánica. La respuesta clínica a una amplia variedad de agresiones graves que limita y antagoniza el efecto inflamatorio recibe el nombre de *síndrome de respuesta antiinflamatoria compensatoria* (CARs). Se caracteriza por una disminución en la capacidad de los monocitos de producir citocinas inflamatorias (TNF- α o IL-6) y reducción a menos del 30% de la expresión del antígeno leucocitario humano HLA-DR en la superficie de los monocitos.^{1,2}

1.2 EPIDEMIOLOGÍA

A lo largo de los últimos 40 años, la prevalencia de muerte debida a sepsis en los países occidentales se ha multiplicado por diez. En la actualidad, en EE.UU. se producen 400.000 casos de sepsis anuales, que ocasionan alrededor de 200.000 casos con choque séptico y 100.000 muertes. En Europa se registran entre 400.000-500.000 casos anuales, por lo que la incidencia de bacteremias se sitúa entre 5 y 30 episodios por cada 1.000 ingresos y la mortalidad directamente relacionada se aproxima al 20% de los casos. En las unidades de cuidados intensivos aproximadamente el 40% de los pacientes

desarrollarán sepsis con una mortalidad cercana al 50% frente al 16% de los pacientes sin sepsis.

Durante las dos últimas décadas, el aumento de las manipulaciones instrumentales (genitourinarias, respiratorias, cateterismos), la administración de perfusiones endovenosas, las intervenciones quirúrgicas cada vez más agresivas (prótesis, injertos intravasculares, trasplantes), la mayor supervivencia de los pacientes que padecen inmunosupresión por edad avanzada, enfermedad de base o tratamiento, ha llevado a un aumento progresivo de la incidencia de bacteremias, principalmente a expensas de las de origen intrahospitalario.^{1,3}

1.3 PATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA

Los microorganismos alcanzan el sistema circulatorio generalmente a partir de un foco infeccioso; sin embargo, en algunas ocasiones, pueden proceder de la propia flora endógena, sin infección previa, o bien ser inoculados directamente en el torrente sanguíneo desde el exterior, a partir de transfusiones sanguíneas, soluciones intravenosas contaminadas, en adictos a drogas por vía parenteral, entre otros.

Existen varios factores que determinan o favorecen la aparición de bacteriemia y sepsis como:

a) *Características propias del agente invasor:* Algunos microorganismos, a partir del foco de infección, dan lugar con facilidad a invasión sanguínea. Éste es el caso de *Salmonella typhi* que suele ocasionar infecciones locales sin bacteriemia, *Brucella spp* y *Neisseria meningitidis*. La existencia de estructuras bacterianas de naturaleza proteica o polisacárida que se encuentran fuera de la membrana externa, los *pili* o fimbrias (*Escherichia coli*), así como el ácido teicoico (*Staphylococcus aureus*) o lipoteicoico (*Streptococcus pyogenes*) y el *slime* (*Staphylococcus epidermidis*) son muy importantes para la adherencia y fijación de los microorganismos a las superficies mucosas. La endotoxina o lipopolisacárido de la membrana externa de los bacilos gramnegativos es un importante inductor de la respuesta inflamatoria. El lípido A, que forma parte de la región central de la membrana externa, es el responsable de las alteraciones hemodinámicas, pirógenas e inflamatorias asociadas a la actividad endotóxica. Las exotoxinas TSST-1, enterotoxina B y enterotoxina C₁ de

Staphylococcus aureus pueden causar el llamado choque tóxico, al igual que algunas cepas de *S. pyogenes* productoras de exotoxina pirógena A y B.

b) *Tamaño del inóculo bacteriano*: El desarrollo del microorganismo en el foco de infección facilita la llegada del mismo al torrente circulatorio en un número suficientemente elevado como para sobrepasar las defensas del organismo y producir el cuadro clínico propio de la sepsis.

c) *Colecciones purulentas sin drenaje*: Las cavidades con pus dejan de ser un riesgo para la producción de bacteriemia cuando son drenadas. Éste es el caso de las colecistitis, abscesos, osteomielitis o empiemas, entre otros.

d) *Manipulación de una zona séptica o instrumentación intravascular*: Retiro de una sonda urinaria, catéteres intravenosos, prótesis vasculares, marcapasos.

e) *Alteraciones estructurales de los vasos sanguíneos*: Como las fístulas arteriovenosas, la insuficiencia mitral, etc., favorecen la lesión del endotelio y el depósito de fibrina y plaquetas. En estos casos, microorganismos poco virulentos procedentes de bacteriemias asintomáticas se adhieren en las zonas lesionadas dando lugar a un foco infeccioso intravascular capaz de producir una sepsis.

f) *Factores relativos al paciente que pueden predisponer a la bacteriemia*: Los pacientes ancianos, los que padecen cirrosis hepática, diabetes, neoplasias, hemopatías graves, sida, los portadores de catéteres urinarios o intravasculares, que están sometidos a ventilación mecánica, tratamiento inmunosupresor con corticoides o citostáticos o nutrición parenteral prolongada, tienen un riesgo aumentado de padecer bacteriemia y choque séptico. En algunos casos la puerta de entrada de la infección puede no ser identificable. Esta circunstancia se observa en más de un 25% de los casos de sepsis nosocomial y con menor frecuencia en los casos de inicio comunitario. El paso de bacterias o sustancias liberadas por ellas a través de la pared del tubo digestivo anatómicamente intacta (translocación bacteriana) se cree que es la causa de un número importante de sepsis de origen desconocido.¹

El choque séptico, pese a estar producido por una gran variedad de microorganismos, es bastante estereotipado, sugiriendo que son más importantes los mecanismos de respuesta del huésped que el tipo de agente infeccioso. La activación del sistema de proteínas de fase aguda contribuye a

la aparición de los síntomas de la sepsis y el choque séptico, como fiebre, hipotensión y trastornos de la coagulación. (Figura 1)¹

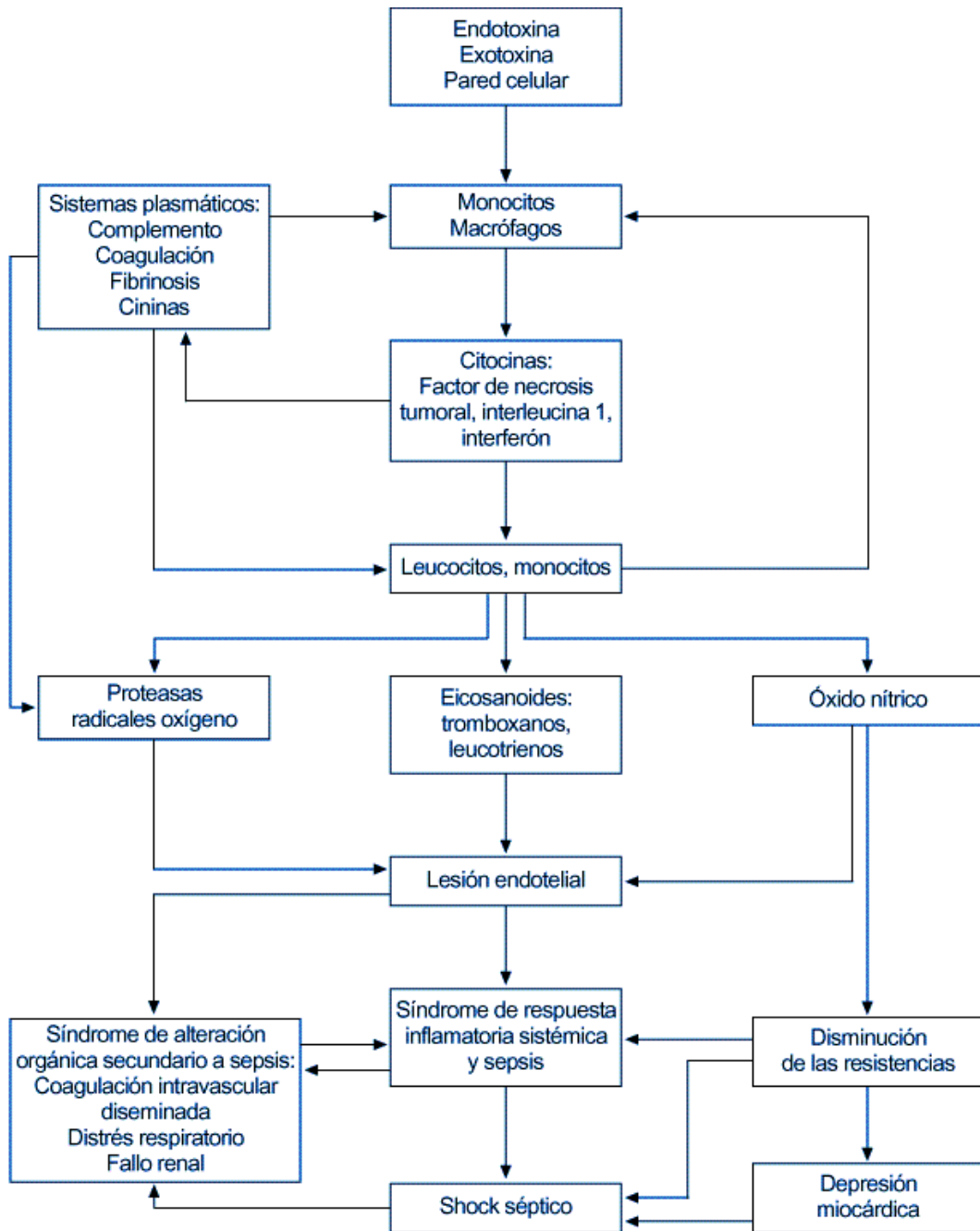


Figura 1. Fisiopatología del choque séptico.¹

La célula clave es el monocito/macrófago, capaz de reaccionar ante moléculas como la endotoxina o lipopolisacárido (LPS), que activan en ella el receptor de la endotoxina CD14. El LPS se une a una proteína transportadora denominada *lipoprotein binding protein* (LBP) y el complejo LBPLPS activa el receptor CD14 del monocito, induciendo la síntesis de citocinas. La *bactericidal permeability-increasing protein* (BPI) se une a la endotoxina bloqueándola,

evitando que el complejo BPILPS interactúe con el receptor CD14, inhibiendo la reacción inflamatoria.

En esta primera fase se liberan citocinas (glucoproteínas de bajo peso molecular que actúan como transmisoras de información) para estimular las defensas del huésped. Entre las citocinas destacan el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 1 beta (IL-1- β), que presentan efectos sinérgicos (fiebre, taquicardia, taquipnea, mialgias, escalofríos, somnolencia). Otras, como la IL-6 e IL-8, actúan de forma sinérgica con el TNF- α o potencian las respuestas celulares, como el interferón gamma (IFN- γ) o el factor activador de las plaquetas.

Además de esta respuesta inflamatoria a las sepsis, se inicia simultáneamente una respuesta antiinflamatoria para limitar el efecto lesivo de la sepsis en los distintos órganos de la economía. Las citocinas poseen un mecanismo de retrocontrol con citocinas antiinflamatorias como la IL-4, IL-10, IL-11 y IL-13, que atenuarán la reacción en cascada y disminuirán los niveles de TNF- α e IL-1- β . También se elevan rápidamente los niveles de los antagonistas de los receptores de la IL-1 (ARIL-1) que bloquean la acción de la IL-1- β y los receptores solubles del TNF- α que antagonizan el TNF circulante. El receptor soluble CD14 actúa también inhibiendo la respuesta inflamatoria. Una respuesta antiinflamatoria excesiva puede llevar a un síndrome de respuesta antiinflamatoria compensatoria (CARS) excesivo, con depresión de la función monocitaria e inmunodepresión.

En una segunda fase, estos mediadores producen sus efectos a través de la activación de sistemas plasmáticos (coagulación, fibrinólisis, complemento y quininas), conjuntos de proteínas que se activan de forma secuencial y que circulan por el torrente sanguíneo en forma inactiva. La IL-1- β genera fosfolipasas, las cuales, a su vez, producen liberación de metabolitos del ácido araquidónico (tromboxano A₂, prostaciclina, prostaglandina E₂ y leucotrienos) a partir de los fosfolípidos de la membrana. Esto induce la formación de prostaglandinas, sobre todo PGE₂, que actúan sobre el centro termorregulador hipotalámico. La IL-1- β y el TNF- α también actúan sobre las células musculares, induciendo la producción de PGE₂, que acelera el catabolismo proteico muscular e induce lesión muscular directa.

La consecuencia es una lesión endotelial generalizada con aumento de la permeabilidad capilar, agregación plaquetaria en la microcirculación, causando isquemia que puede evolucionar a daño por reperfusión, activación de la coagulación y deterioro de la vía inhibitoria de la proteína C-proteína S y vasodilatación muy marcada.

El óxido nítrico, liberado por las células endoteliales por efecto de la óxido nitricosintetasa inducible, posee efectos citotóxicos y vasodilatadores, en principio útiles para la defensa antimicrobiana. El óxido nítrico es capaz de lesionar las enzimas mitocondriales responsables de la cadena respiratoria en los microorganismos, dificultando la utilización de oxígeno. También tiene efectos citolíticos sobre el huésped y puede causar lesión endotelial, responsable del aumento de la permeabilidad capilar. El óxido nítrico es un mediador fundamental en los cambios hemodinámicos del choque séptico: hipotensión arterial por vasodilatación y función cardiaca alterada por el efecto miocardiodepresor.

Tanto la sepsis, el choque séptico, como los mecanismos de isquemia-reperfusión producen activación de las células endoteliales, a través de la IL-8 y el PAF, haciendo que se expresen en el endotelio las moléculas de adhesión que controlan las relaciones leucocito-endotelio. Entre ellas destacan las integrinas (CD11 y CD18), la superfamilia de las adhesinas (ICAM1, ICAM2 e ICAM3) y las selectinas (LECAM y ELAM). En una primera fase aparece la marginación leucocitaria con unión débil al endotelio, seguida de la adherencia firme, la diapédesis o paso a través de poros endoteliales y la migración al foco séptico. La adhesión y activación de los leucocitos polimorfonucleares producen un efecto inflamatorio marcado y determinan en parte la lesión tisular en la sepsis.

La activación de la coagulación es muy precoz desde el inicio de la sepsis, debido al TNF- α y la IL1- β , a través de la generación de factor tisular (vía extrínseca) y en mucho menor grado de activación del factor XII (vía intrínseca). Esto conduce a la CID con trombosis intraluminal y consumo de factores de la fase plasmática y del anticoagulante fisiológico AT-III. La función alterada de las proteínas C y S, con poder anticoagulante, potencia los efectos procoagulantes, a lo que se une el déficit de AT-III, empeorando la CID. Paralelamente se produce una inhibición de la fibrinólisis por inactivadores del

activador tipo 1 del plasminógeno (PAI-1), lo que favorece la persistencia de los trombos intravasculares.^{1, 2, 4}

Todos estos mecanismos conducen a una lesión vascular generalizada por alteración endotelial, que es la alteración fundamental en la sepsis grave y el choque séptico.

En una fase avanzada puede aparecer una depresión miocárdica, caracterizada primero por la incapacidad para mantener un gasto cardíaco elevado. Posteriormente aumenta el volumen telediastólico y disminuye la fracción de eyección, aunque el volumen sistólico se mantiene gracias a la dilatación ventricular. El gasto cardíaco puede estar elevado, pero no lo suficiente para mantener una perfusión adecuada en los tejidos, debido a la excesiva vasodilatación. A pesar de esta depresión miocárdica, la hipotensión profunda del choque séptico es debida fundamentalmente a la vasodilatación, incluso en fases muy avanzadas.

La evolución del paciente dependerá tanto del estímulo que ha desencadenado la infección como de la respuesta del organismo a la infección. Si predomina el efecto inflamatorio (SRIS) se progresa a la disfunción orgánica (SDMO), se mantiene el choque séptico o se camina a la apoptosis (muerte celular programada). Si predomina el efecto antiinflamatorio (CARS) se produce una inmunodepresión con anergia y aumento de sensibilidad a nuevas infecciones. La homeostasis alterada en la sepsis grave se recupera mejor cuando el SIRS y el CARS están equilibrados.¹

1.4 ETIOLOGÍA

La incidencia de bacteremia por microorganismos grampositivos y gramnegativos ha sufrido variaciones a lo largo de las últimas décadas. En la era preantibiótica existía un claro predominio de los cocos grampositivos. A partir de los años sesenta los bacilos gramnegativos se convirtieron en los principales agentes causantes de bacteremia, estableciéndose una relación de 3 a 1 con respecto a los cocos grampositivos.³

A finales de los años ochenta y principios de los noventa se produjo un resurgimiento de las bacteremias por microorganismos grampositivos a expensas principalmente de *S. aureus* y estafilococos coagulasa negativa. Ello

se ha atribuido al incremento de las maniobras terapéuticas que conllevan una instrumentalización, como el uso de catéteres endovasculares, a las enfermedades asociadas a la adicción a drogas por vía parenteral (ADVP) como la endocarditis comunitaria, al sida y a la masiva utilización de antibióticos de amplio espectro activos frente a microorganismos gramnegativos. Aproximadamente dos tercios de los casos de fallo multiorgánico están relacionados con infecciones por microorganismos gramnegativos, ya que de un 15 a un 40% de las bacteremias causadas por éstos se complican con choque séptico. Las bacterias gramnegativas involucradas con más frecuencia en este síndrome son el meningococo, las enterobacterias (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Proteus* spp, etc.) y *Pseudomonas* spp; sin embargo, también pueden ser causa de choque séptico microorganismos grampositivos como: neumococo, estreptococos, *Staphylococcus aureus* o *Clostridium perfringens* y, rara vez, micobacterias, rickettsias, hongos y virus.¹

A finales de la década de los ochenta y coincidiendo con el incremento de las bacteremias por grampositivos, se ha venido produciendo un aumento de la incidencia de las producidas por *Enterococcus* spp. Este hecho se relaciona con el uso creciente de ciertos antibióticos de amplio espectro, como las cefalosporinas de tercera generación, frente a los cuales este microorganismo es resistente. La bacteremia por *Enterococcus* spp, principalmente *E. faecalis*, se produce con más frecuencia a partir de infecciones del tracto urinario en pacientes sondados o sometidos a instrumentaciones, que han recibido antibioticoterapia previa o que presentan alteraciones estructurales de las vías urinarias. La incidencia de bacteremia por *S. pneumoniae* es más elevada en niños de edad inferior a 2 años y en adultos de más de 60 años. En los niños, con el uso generalizado de la vacuna frente al *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae* está adquiriendo preponderancia como la segunda causa de meningitis después del meningococo. La infección por *Salmonella* no *typhi*, que generalmente suele presentarse como una diarrea acuosa, también puede ser causa de bacteremia en lactantes, ancianos o pacientes con alteración de la inmunidad celular (neoplasias, trasplantados renales, sida, entre otros). *Brucella* spp fue hace años una causa importante de bacteremia; sin embargo, el control sanitario de las fuentes de contagio

(ganado ovino, caprino) ha provocado un descenso de los aislamientos de esta bacteria. *P. aeruginosa* es generalmente un microorganismo oportunista nosocomial; la mayoría de infecciones se asocian a una disminución de las defensas del huésped debidas a la rotura de la integridad de la piel o mucosas, al uso de catéteres endovenosos, sondas urinarias o tubos endotraqueales, a la diálisis peritoneal ambulatoria crónica, diabetes mellitus o a una disfunción de los mecanismos inmunes específicos como la neutropenia, hipogammaglobulinemia, el déficit de complemento, la inmunodepresión iatrógena o a la infección por el HIV. Estos factores han provocado un aumento progresivo de las bacteremias por este microorganismo en los últimos años.

La fungemia es una infección grave que afecta principalmente a pacientes inmunodeprimidos o sometidos a cirugía abdominal. En la actualidad se está observando un aumento de su incidencia, básicamente a expensas de los miembros del género *Cándida*, debido al incremento de los factores de riesgo como: neutropenia intensa y prolongada, catéteres endovenosos, administración de antibióticos de amplio espectro, glucocorticoides, citostáticos o nutrición parenteral. El uso profiláctico de antifúngicos de la familia de los azoles (fluconazol) ha propiciado un incremento en la frecuencia de aislamiento de algunas especies como *C. glabrata* y *C. krusei*, con sensibilidad disminuida a estos antifúngicos.³

De forma paralela al aumento de las fungemias se ha podido constatar una disminución de las bacteriemias por microorganismos anaerobios. A principios de los ochenta el porcentaje de bacteremias por anaerobios se encontraba alrededor del 10%, mientras que en la década de los noventa es del 2%. Esta disminución tan importante puede atribuirse al uso de antibióticos anaerobicidas, la generalización de la profilaxis quirúrgica y al tratamiento precoz de las infecciones por estos microorganismos.

En algunos hospitales una causa importante de morbilidad y mortalidad son las miniendemias producidas por microorganismos multirresistentes, como *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA), *Acinetobacter* spp y *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina y a la ampicilina.¹

1.5 CUADRO CLÍNICO

Existe un *continuum* de gravedad creciente desde la infección, a través de la bacteremia y la sepsis, hasta el síndrome de alteración multiorgánica y el choque séptico. La clínica de la sepsis aguda grave es similar a la que se produce al inyectar TNF en voluntarios: fiebre, escalofríos, taquicardia, taquipnea, mialgias, cefalea y confusión. Tras la inyección de una toxina bacteriana se observa un rápido ascenso en el TNF circulante, que alcanza un pico a los 90 min. y se elimina de la circulación antes de las 3 h.

La fiebre es frecuente pero no constante, y el 10% de los pacientes con sepsis presentan hipotermia, en particular recién nacidos, ancianos, alcohólicos y urémicos. El 20% de las sepsis por bacilos gramnegativos cursan con hipotermia, por lo que una temperatura rectal inferior a 36,5 °C puede ser un indicador de sepsis. Las mialgias que acompañan los cuadros febriles infecciosos se deben a un aumento del tono muscular a través de los nervios somáticos y a lesión directa muscular. Son frecuentes en el tercio proximal de los muslos.

En la piel pueden observarse lesiones de hipoperfusión, como lividez, y de diátesis hemorrágica, como petequias y equimosis. La púrpura fulminante constituye un cuadro grave de choque séptico y CID, en la que existe necrosis hemorrágica extensa de partes acras, que lleva a la gangrena y la amputación espontánea. Suele estar causada por *N. meningitidis*, pero se ha descrito también la posibilidad de estar causada por otros bacilos gramnegativos o por *S. aureus*. En la piel pueden, asimismo, aparecer lesiones necrosantes rodeadas de inflamación debidas a émbolos sépticos, como el ectima gangrenoso debido a *P. aeruginosa*. Todos estos trastornos conducen a una insuficiente utilización de oxígeno en los tejidos y a la producción de lactatos, con acidosis láctica grave y deterioro progresivo de todos los órganos.

La taquipnea, característica de la primera fase de la bacteremia, produce una alcalosis respiratoria, que si persiste la sepsis puede evolucionar a acidosis metabólica, la hipoxemia que suele ser moderada al inicio y puede agravarse rápidamente si aparece un pulmón de choque o síndrome del distrés respiratorio del adulto. Las alteraciones mentales por hipoperfusión cerebral suelen manifestarse por signos de encefalopatía, con agitación, confusión y obnubilación progresivas.¹

1.6 DIAGNÓSTICO Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico de la bacteremia, SRIS, sepsis, sepsis grave y choque séptico debe basarse en los síntomas y signos clínicos, en conjunto con los datos de laboratorio (bioquímicos, hematológicos y microbiológicos).

Habitualmente se comprueba leucopenia con desviación a la izquierda y eosinopenia y, tras pocas horas, leucocitosis con neutrofilia y desviación a la izquierda. La neutrofilia $>10,000$ suele ser signo de bacteremia. La existencia de vacuolas intracitoplasmáticas, granulaciones tóxicas y cuerpos de Döhle en los neutrófilos también suele ser signo de bacteremia. Aparecen hiperglucemia (hormonas diabetógenas) y raramente hipoglucemia. El TNF hace que disminuya la síntesis hepática de albúmina, que desciende rápidamente a medida que progresa la sepsis. El colesterol sérico desciende marcadamente.

Las alteraciones en la coagulación acostumbran a ser precoces y preceden en ocasiones al choque séptico, con trombocitopenia e hiperfibrinogenemia. Rápidamente el consumo de factores de la fase plasmática evoluciona a la CID franca, con trombocitopenia grave, descenso del fibrinógeno y aparición de D-dímeros.

Otras proteínas de fase aguda que acompañan a la sepsis grave son la proteína C reactiva (PCR) y la procalcitonina (PCT), correlacionándose muy bien sus valores con la gravedad del proceso séptico. La procalcitonina, proteína precursora de la calcitonina, se eleva en las sepsis bacterianas generalizadas y muy marcadamente en la sepsis grave y el choque séptico, siendo un marcador de ayuda diagnóstica, indicador de gravedad y pronóstico. Los valores de IL-6 se correlacionan con el pronóstico, disponiéndose de un test rápido en la cabecera del paciente.⁵

El diagnóstico microbiológico se basa en la visualización del microorganismo causal mediante tinciones a partir de muestras procedentes del foco de infección, en su aislamiento a partir de muestras de sangre (hemocultivos) y en la detección de sus productos antigénicos.

En los últimos años se han desarrollado sistemas automáticos de hemocultivo basados en la detección de la producción de CO_2 como resultado del metabolismo microbiano. Esto ha permitido aumentar la sensibilidad y rapidez en el diagnóstico de las bacteremias.

Diversos estudios han demostrado que la posibilidad de detectar un episodio bacterémico está directamente relacionado con el volumen de sangre cultivado, por lo que en adultos se recomienda la extracción de dos muestras de sangre (20-30 mL) obtenidas en un intervalo variable, según la urgencia de la situación clínica, antes de iniciar el tratamiento antibiótico. En los niños, el volumen de sangre que se puede obtener es menor que en los adultos; sin embargo, la concentración de microorganismos suele ser muy superior, por lo que volúmenes de 1-5 mL son suficientes para el diagnóstico de la bacteremia en este grupo de población.

Actualmente el 30% de los pacientes que desarrollarán sepsis y choque séptico están recibiendo algún tipo de tratamiento antibiótico (profiláctico, empírico con cobertura parcial o a dosis insuficientes), lo que dificulta el diagnóstico microbiológico. Este hecho ha propiciado la aparición de los frascos para hemocultivos que contienen resinas, cuya función es la de bloquear e inactivar las sustancias inhibitoras del crecimiento microbiano presentes en la sangre del paciente (antibióticos, citostáticos, complemento, lisozima). Este tipo de hemocultivos han demostrado ser muy eficaces principalmente para el diagnóstico de las bacteriemias por *S. aureus* y estafilococos coagulasa negativa. La detección en orina del antígeno de *Legionella* spp mediante radioinmunoanálisis y del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* por contraelectroforesis son realmente útiles en el diagnóstico de la sepsis por estos microorganismos.

Un cuadro clínico similar al de bacteriemia (fiebre, temblor, mialgias) puede estar producido por otras situaciones en las que se libera TNF- α , como lisis tumorales espontáneas o por quimioterapia, rabdomiólisis aguda, lesiones del SNC (traumáticas o accidentes vasculares) o cuadros de hipertensión muscular con fiebre y obnubilación (hipertermia maligna, síndrome neuroléptico maligno y catatonía letal). El hemocultivo permite salir de dudas en algunos casos, pero el diagnóstico es clínico.^{1,5}

El SIRS es un proceso frecuente (cerca del 90% de los pacientes ingresados en una UCI lo presentan) y existen múltiples causas no infecciosas que pueden producirlo (pancreatitis grave, grandes quemados, politraumatismos, sistémicas graves con vasculitis, síndrome antifosfolípido). Se deben descartar el choque hipovolémico y el cardiogénico. Mediante un

catéter venoso central es posible determinar las presiones de llenado del ventrículo derecho (presión venosa central). Si es baja se sospechará un choque hipovolémico, hemorragia oculta o una hipovolemia asociada a sepsis. Si es alta, un fallo cardíaco, taponamiento cardíaco, tromboembolismo pulmonar o neumotórax a tensión. En caso de duda será necesario colocar un catéter en la arteria pulmonar para medir la presión capilar pulmonar, el gasto cardíaco y las resistencias periféricas. La hipotensión arterial, con taquicardia, descenso muy marcado de las resistencias vasculares periféricas y aumento del gasto cardíaco, sugiere choque distributivo, y entre éstos está el séptico. Otras causas de choque distributivo (neurogénico, traumático, anafiláctico, por fármacos vasodilatadores) pueden simular un choque séptico. Entre los estados de choque con resistencias periféricas bajas, además del séptico, se encuentran el choque neurogénico (anestesia epidural o intradural, accidentes vasculares cerebrales o lesiones craneales graves, intoxicaciones graves) y el anafiláctico (antecedente de alérgico y fenómenos de hipersensibilidad acompañante, como edema laríngeo, o broncoespasmo). Un cuadro hemodinámico parecido al del choque séptico se puede observar en el beriberi (déficit de tiamina), tirotoxicosis, fístulas arteriovenosas de alto gasto, Paget, síndrome carcinoide y en la cirrosis.

La insuficiencia suprarrenal aguda (crisis addisoniana) puede producir un cuadro similar al choque séptico. Ante una hipotensión refractaria se pensará en ello, sobre todo si hay bacteriemia por *N. meningitidis*, uso previo de glucocorticoides, tuberculosis diseminada, SIDA o enfermedad autoinmune que pueden haber causado una necrosis de la glándula adrenal.^{3, 5}

1.7 PRONÓSTICO

La mortalidad aumenta a medida que progresa la sepsis. En las bacteremias no complicadas es inferior al 5%, en las sepsis del 15-20% y en las sepsis graves del 25-30%. La mortalidad del choque séptico es del 50-60% y asciende al 75% en los estados de choque refractarios. En el síndrome de falla orgánica múltiple la mortalidad es del 60-80%. Si hay criterios de síndrome de disfunción multiorgánica, la mortalidad es de alrededor del 50% si fallan dos órganos y del 85% si fallan tres órganos. La utilización de índices de valoración de gravedad, que cuantifican las alteraciones clínicas y bioquímicas,

como el APACHE-II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*), puede ayudar a determinar la gravedad y el pronóstico de estos pacientes. Dado que una vez instaurado el estado de choque es difícil reducir la mortalidad, los esfuerzos deben dirigirse a interrumpir la evolución de la sepsis cuanto antes.¹

1.8 TRATAMIENTO

El objetivo final del *tratamiento etiológico* debe ser la eliminación de los microorganismos responsables del cuadro clínico; por tanto, se basará en la administración de antibióticos y en la actuación médica o quirúrgica sobre el foco de sepsis. En algunos casos la existencia de colecciones purulentas o abscesos no drenados puede causar bacteremias persistentes. La liberación de una obstrucción, especialmente en los tractos urinario o biliar, contribuye en gran medida a resolver la infección. El material protésico intravascular colonizado pueden ser causa de bacteremia continua. En la mayoría de ocasiones únicamente su retirada permite la resolución del cuadro clínico.¹

Cuando todavía no se dispone de información sobre el microorganismo causal y su sensibilidad a los antimicrobianos, la antibioticoterapia inicial debe ser empírica. En su elección deberán considerarse una serie de factores como: el tipo de microorganismos que pueden ser la causa de la infección según el origen de la sepsis, la concentración que alcanza el antibiótico en ese foco, el porcentaje de resistencias intra o extrahospitalarias de los microorganismos posiblemente implicados o el estado inmunitario del paciente. Debido a la gravedad de la situación clínica los antibióticos deben alcanzar concentraciones máximas en sangre lo más precozmente posible, por lo que deben administrarse agentes bactericidas, a dosis altas, por vía intravenosa y, siempre que sea posible, combinaciones sinérgicas. La eficacia del tratamiento antimicrobiano de la sepsis se relaciona directamente con la precocidad de su instauración y con su actividad sobre el/los microorganismo/s causales. Sin embargo, una vez instaurado el choque séptico, los antibióticos apenas mejoran el cuadro tóxico durante las primeras 24 h, debido a la liberación masiva de mediadores. En pacientes graves la administración de antibióticos bactericidas puede desencadenar una lisis bacteriana y una reacción del tipo Jarisch-Herxheimer, caracterizada por escalofríos, taquipnea, fiebre, dolor de cabeza, mialgias y vasodilatación periférica.

Los regímenes antibióticos empíricos deben ser modificados de forma apropiada una vez se conocen los resultados de la sensibilidad del/los microorganismo/s implicados.

Los grandes progresos en el tratamiento etiológico de las sepsis no se han acompañado de avances paralelos en el tratamiento fisiopatológico, que ayudaría a frenar la respuesta inflamatoria sistémica a la infección. Los esteroides inhiben la síntesis de citocinas por los monocitos, y administrados en animales simultáneamente con el microorganismo los protegen contra el choque séptico, y se emplearon como la primera opción.

Los anticuerpos contra la endotoxina tanto policlonales (de donantes humanos inmunizados), como monoclonales (ingeniería genética), humanos o murinos, no han sido eficaces e incluso pueden aumentar la mortalidad en sepsis por grampositivos. Los antagonistas del óxido nítrico pueden mejorar la situación de hipotensión a costa de efectos secundarios tanto o más graves.

Posteriormente se han intentado encontrar fármacos antiinflamatorios no esteroideos efectivos en esta situación clínica. Entre ellos: el antagonista de los receptores de la IL-1 (IL-1ra), antibradiquininas (CP0127), anti-PAF (BN 52021), anti-TNF, receptor soluble del TNF (P80 y P55), antiprostaglandinas (ibuprofeno).

Uno de los aspectos más importantes del tratamiento de estos pacientes reside en la expansión de volumen y la administración de fármacos vasoactivos e inotrópicos. La disminución de la volemia es constante en esta situación, debido al aumento de la permeabilidad capilar (edema), secuestro de líquido en las zonas inflamadas (tercer espacio), edema celular (lesión intracelular) y aumento de la capacitancia arterial y venosa (vasodilatación y disminución de la volemia efectiva). El aporte de líquidos es importante para conseguir un gasto cardiaco elevado, necesario dada la vasodilatación intensa de estos pacientes y su estado hiperdinámico. Muchos pacientes precisan entre 4-6 L de cristaloides. La acidosis debida a glucólisis anaerobia y formación de ácido láctico es frecuente y se corregirá con bicarbonato sódico intravenoso si es grave, evitando la alcalosis que produciría una dificultad de entrega de oxígeno a los tejidos.

Se considera que la presión arterial sistólica debe ser superior a 90 mm Hg y la diuresis mayor de 0,5 mL/kg/h. Para ello la PVC se debe mantener

entre 8-12 cm H₂O y la presión capilar pulmonar (PCP) entre 10-15 mm Hg. Por debajo de estas cifras puede existir hipovolemia, y por encima de ellas la sobrecarga de fluidos podría provocar un edema pulmonar. La función cardiaca es óptima con una presión capilar pulmonar de 18 mm Hg, pero se recomienda no pasar de 15. Una reposición precoz y decidida, pero con precaución, no se asocia a una mayor frecuencia de síndrome de distrés respiratorio del adulto, mientras que una reposición de líquidos tardía puede abocar al choque refractario. La velocidad de infusión oscilará entre 250-500 mL cada 15 min., con control de las presiones de llenado (PVC y PCP).

Los líquidos administrados pueden ser coloides o cristaloides, sin que se hayan demostrado ventajas con alguno de ellos. En casos de hipoalbuminemia inferior a 2 g/dL, la administración excesiva de cristaloides puede favorecer un descenso de presión oncótica y la aparición de edema, por lo que se administrará seroalbúmina. El suero de Ringer lactato está desaconsejado, ya que en estos casos la metabolización hepática del lactato a bicarbonato está enlentecida y puede agravar la acidosis láctica. Los concentrados de hematíes sólo se emplean cuando el transporte de oxígeno pueda estar limitado por un hematócrito bajo o en casos de hipovolemia por anemia aguda. Se mantendrá también un gasto cardíaco elevado y una presión de oxígeno arterial normal. Se aconseja un hematócrito por encima del 30%, para mantener un aporte adecuado de oxígeno a los tejidos. La acidosis grave hace que las aminas no actúen, por lo que se empleará bicarbonato sódico si el pH es inferior a 7.10.

Una vez corregido el déficit de volumen y la acidosis, si no ha mejorado la situación hemodinámica (presión arterial sistólica inferior a 90 mm Hg y oliguria) se instaurará soporte con fármacos vasoactivos. Hay que recordar que con TA sistólica inferior a 80 mm Hg es difícil que el riñón mantenga el filtrado glomerular. Los diuréticos, por otra parte, pueden agravar la hipovolemia relativa de estos pacientes. La noradrenalina, es la de elección en el choque séptico, ya que aumenta las resistencias vasculares sistémicas y la presión arterial. En algunos casos se pueden precisar dosis altas de noradrenalina, aunque con control hemodinámico estricto, alcanzando en ocasiones dosis de hasta 5 µg/kg/min. En los casos con depresión miocárdica puede ser útil la dobutamina o la dopexamina.^{1, 2}

1.9 BIOSÍNTESIS DE PROCALCITONINA

La procalcitonina (PCT) es un polipéptido precursor de la calcitonina, cuya síntesis está regulada por la familia de genes CALC (existen 4 genes de esta familia, denominados CALC-I, II, III, IV), los cuales se encuentran en el cromosoma 11.

La PCT se deriva a su vez de la prePCT que contiene 141 residuos de aminoácidos y un peso molecular de 15,466 Da, la información genética de estas moléculas se encuentran específicamente en el gen CALC-I, en la señal inicial (señal peptídica) se escinden 25 residuos de aminoácidos de la prePCT en el residuo metionina, quedando una molécula de 116 residuos llamada PCT, la cual a su vez, contiene una estructura peptídico de 57 aminoácidos denominada nPCT junto con la molécula de calcitonina de 33 aminoácidos y una porción final compuesta por 21 aminoácidos denominada CCP-I o CCP-II, también denominadas *katacalcinas* (estas últimas moléculas sin actividad biológica documentada hasta el momento). En la siguiente figura (*Figura 2*) se esquematiza la secuencia de eventos realizada para la síntesis de PCT, CT, nPCT y CCP-I.⁶

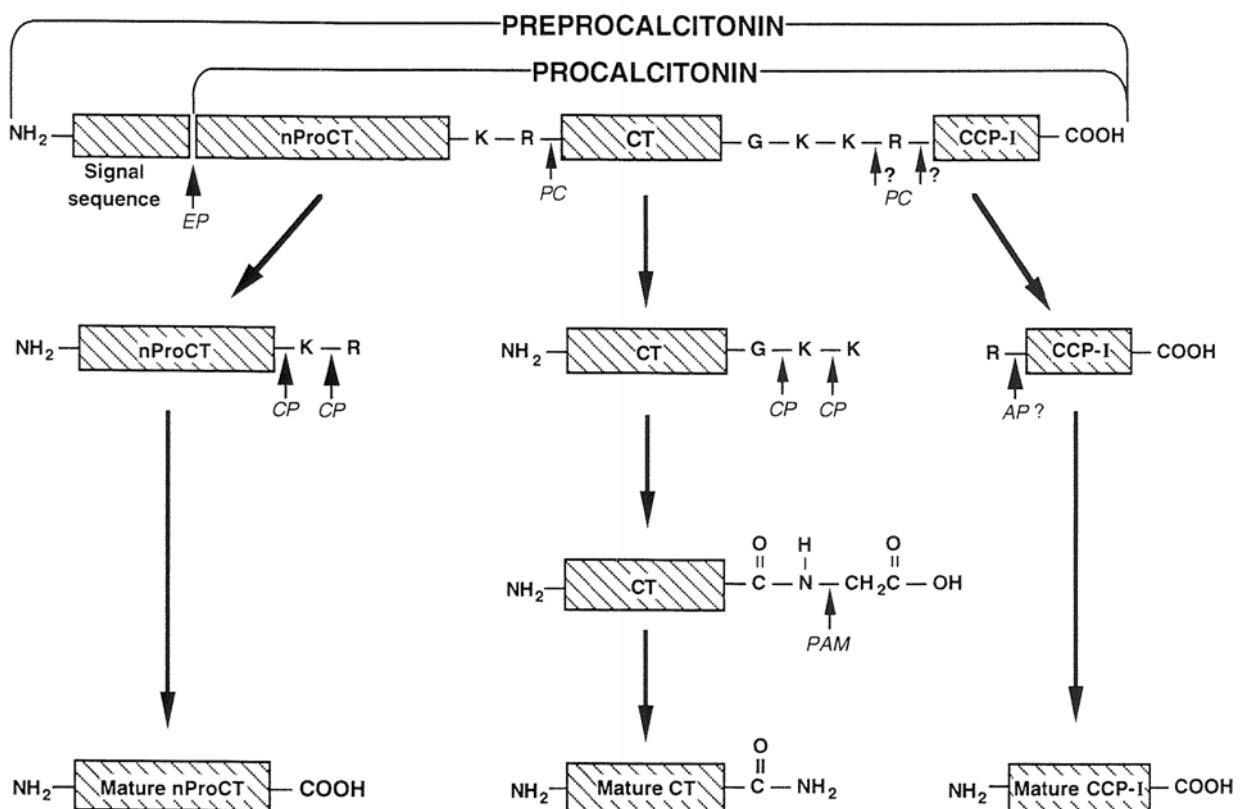


Figura 2. **Signal sequence**=Señal peptídica, **nProCT**=nProcalcitonina, **CT**=Calcitonina, **CCP-I o II**=Katacalcinas, **EP**=Endopeptidasa, **CP**=Prohormona convertasa⁶

Este polipéptido se ve incrementado en su síntesis en procesos infecciosos o inflamatorios; además, dicho incremento se correlaciona con la gravedad de la enfermedad y eventualmente con el pronóstico de la misma.⁷

En situaciones normales la calcitonina (CT) se sintetiza en las células T de la tiroides, en ausencia de infección el gen *CACL-I* se encuentra suprimido en el resto de tejidos extratiroides. Sin embargo, ante la presencia de un proceso infeccioso se encuentra incrementada la expresión del gen de transcripción mRNA de CT, lo cual a su vez ocurre de una forma constante y principalmente en tejidos no hematológicos como el hígado, pulmón, riñón, adipocitos y músculo. La síntesis de dicha citoquina inflamatoria (PCT) se ve estimulada por productos bacterianos como las endotoxinas y se suprime ante la presencia de interferón- γ (INT- γ), esta última citoquina se ve incrementada en procesos infecciosos de tipo viral; además existen citoquinas, producidas por el huésped, que incrementan la sobreproducción de PCT como el factor de necrosis tumoral- α (FNT- α), las interleucina-1 y 6 (IL-1 y 6), tal como se ejemplifica en la figura 3.^{7, 8}

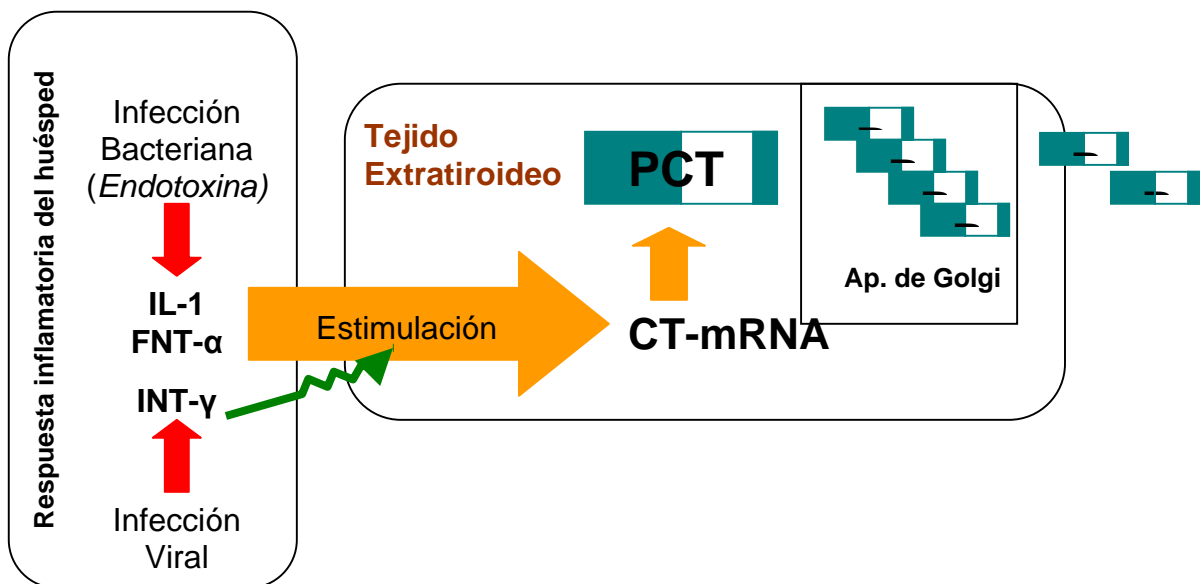


Figura 3. Biosíntesis de procalcitonina (PCT). **CT-mRNA**=gen *CALC-I* para calcitonina, **IL-1**=Interleucina 1, **FNT- α** =factor de necrosis tumoral alfa, **INT- γ** =interferón- γ .⁷

1.10 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE PROCALCITONINA SÉRICA

En la actualidad existen varias formas de determinar el nivel sérico de procalcitonina. La determinación sérica puede ser de forma cuantitativa o semicuantitativa, teniendo en cuenta que la segunda forma provee de menor tiempo para obtener resultado y se puede realizar a la cama del paciente mediante luminometría, lo cual a su vez es una desventaja frente a los métodos cuantitativos que realizan el estudio mediante luminometría o uso de anticuerpos anti-PCT que tiene una mayor sensibilidad. Otra ventaja de los métodos cuantitativos es la determinación sérica exacta, lo que nos provee de información pronóstica respecto a la gravedad del proceso infeccioso en los pacientes.⁷

1.11 NIVELES SÉRICOS DE PROCALCITONINA E IMPLICACIONES DIAGNÓSTICO-TERAPÉUTICAS

La determinación del nivel sérico de procalcitonina además de proveer información pronóstica, nos orienta hacia el plan terapéutico a realizar, tal como se muestra en la tabla siguiente (*Tabla 1*). Un nivel sérico mayor a 10 ng/ml nos traduce sepsis severa, lo que implica alto riesgo de morbi-mortalidad.^{5, 7, 9}

Tabla 1. Niveles séricos de procalcitonina (PCT) y su correlación clínica¹⁰

Valores normales <0.05ng/ml	Paciente sano, sin proceso inflamatorio sistémico
PCT <0.5 ng/ml	Respuesta inflamatoria leve, probablemente local
PCT <2.0 ng/ml	Respuesta inflamatoria sistémica de forma moderada. Diagnóstico de sepsis. Requiere nueva determinación en las próximas horas
PCT 2.0-10.0 ng/ml	Alto riesgo de falla orgánica múltiple. En caso de persistir nivel sérico entre estos resultados, habrá de considerarse cambio de manejo antibiótico
PCT >10 ng/ml	Sepsis grave, gran riesgo de resultado letal

1.12 UTILIDAD CLÍNICA DE LA DETERMINACIÓN DE PROCALCITONINA

La causa más frecuente de infección sistémica a nivel mundial son las infecciones respiratorias, las cuales a pesar de tener una etiología viral en un

importante porcentaje de los casos, reciben antibiótico de una forma indiscriminada. El uso de antibióticos de forma irracional contribuye a la resistencia antimicrobiana de las bacterias, por lo que es imprescindible el limitar este acto.^{7, 11}

Una situación importante que limita el diagnóstico etiológico de tipo bacteriano en las infecciones respiratorias, es la alta frecuencia con la que empiezan dichos procesos con infecciones virales y eventualmente tras un abordaje diagnóstico apropiado existe traslape de datos clínicos compatibles con ambas posibilidades etiológicas, dando como resultado la decisión del uso de antibiótico finalmente.

Esta es la principal justificación del desarrollo de múltiples métodos diagnósticos con fines de orientar hacia la posibilidad de etiología bacteriana, siendo el más actual la determinación del nivel sérico de procalcitonina. Por ello, se han planteado múltiples algoritmos que nos orientan hacia la decisión terapéutica más apropiada, tal como se muestra a continuación en la figura 4.^{7,}

8, 10

Diagnóstico de infección bacteriana con PCT

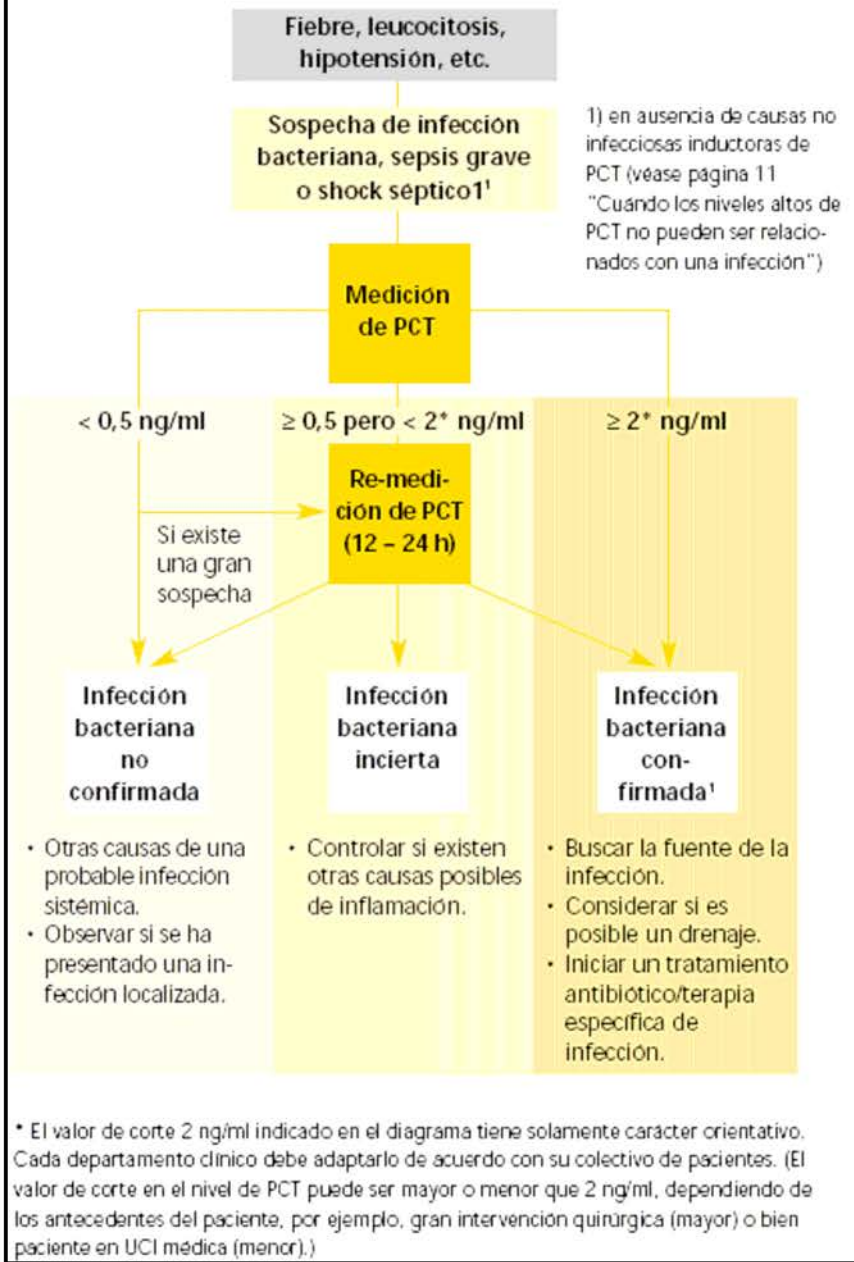


Figura 4. Abordaje diagnóstico de infecciones bacterianas según el nivel sérico de PCT¹⁰

Así mismo, el monitoreo sérico de procalcitonina ha permitido evaluar el manejo médico instalado y decidir continuar con el mismo, utilizar otra opción

terapéutica y/o buscar otra posible causa del fracaso terapéutico, tal como se muestra en la figura 5.

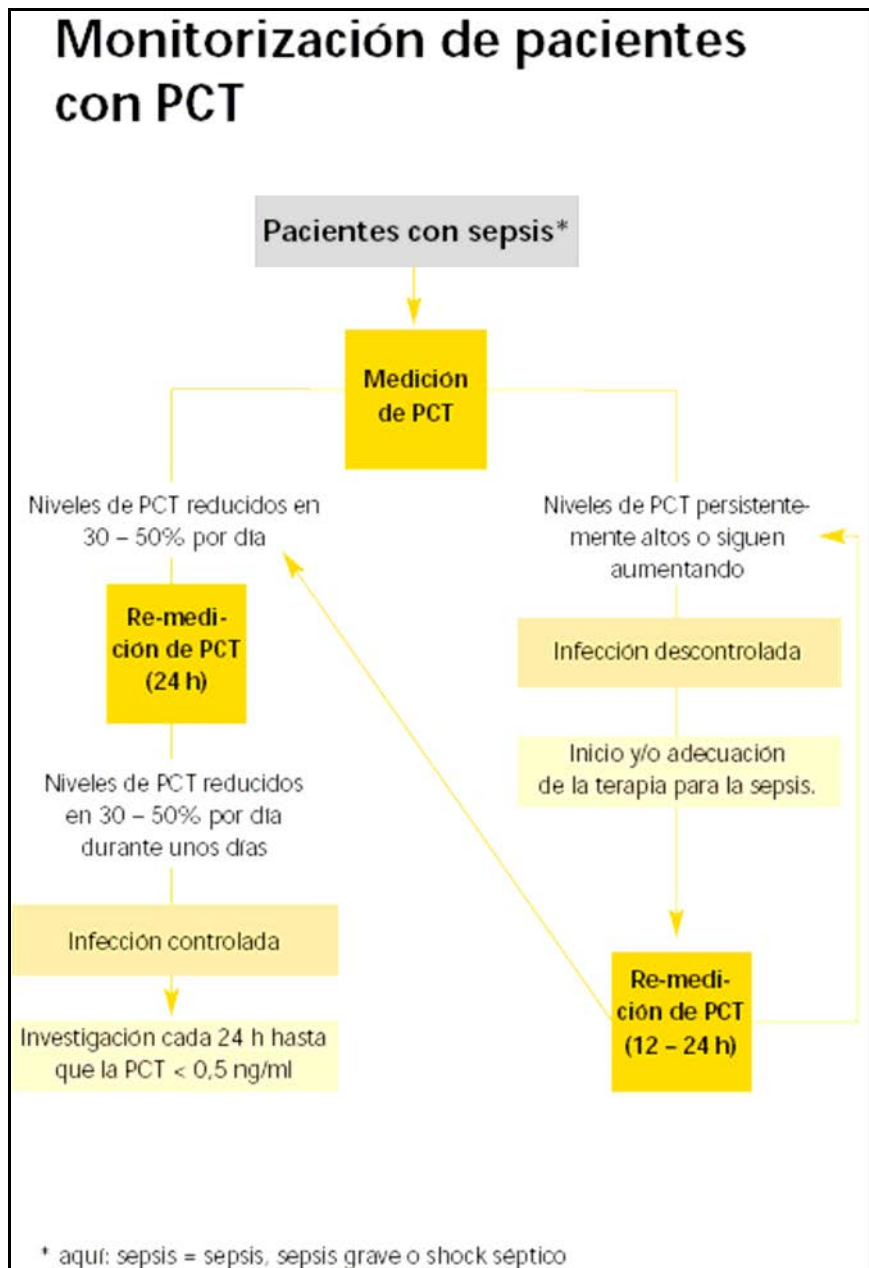


Figura 5. Monitoreo de Procalcitonina sérica.¹⁰

En la actualidad, los resultados de los meta-análisis realizados muestran que la PCT sérica es un mejor marcador de infección, independientemente del grado del proceso infeccioso, con respecto a la determinación de otros marcadores de inflamación como la proteína C reactiva (PCR). Se concluye que la sensibilidad de la PCT sérica es del 88% comparado con el 75% de la PCR, así mismo, la especificidad de la PCT es del 81% contra el 67% para la

PCR, lo cual se ha corroborado en múltiples estudios realizados.¹² Otro punto a favor del uso de PCT sérica, es la mayor sensibilidad y especificidad que muestra frente a PCR para diferenciar procesos bacterianos de virales, con las implicaciones terapéuticas ya comentadas anteriormente.

Esta mayor sensibilidad y especificidad se ha observado prácticamente en todos los procesos infecciosos bacterianos estudiados, como endocarditis, neumonía, meningitis, pancreatitis, entre otros.^{7, 13, 14, 15}

A pesar de múltiples estudios concluyentes en la utilidad del uso de PCT sérica para el abordaje diagnóstico y decisiones terapéuticas en los pacientes con sepsis, existen resultados controversiales en ciertas patologías como la pancreatitis y procesos infecciosos postquirúrgicos. Tan solo existen resultados respecto a la utilidad la PCT sérica en pacientes postoperados de tórax y trauma craneoencefálico, sin embargo, en pacientes con sepsis abdominal la información es muy escasa y con resultados controversiales.^{16, 17, 18}

Se ha planteado la pobre utilidad del nivel sérico de PCT en pacientes con sepsis y falla renal aguda o crónica, sin embargo, tal como se demuestra en el estudio de Steinbach y cols., la determinación de PCT es un buen método de apoyo diagnóstico en sepsis de origen bacteriano frente a la PCR.¹⁹

Finalmente, la conclusión general de los estudios donde se compara PCT frente a PCR muestran que ambos estudios son igualmente efectivos para determinar la presencia de un proceso infeccioso activo pero la tendencia de la PCT para orientar hacia un proceso bacteriano, factor pronóstico y severidad de la infección, es muy franca y con significancia estadística. Además, se ha demostrado ciertas ventajas de la PCT sérica frente a otros marcadores de inflamación, lo cual se ejemplifica en la siguiente tabla 2.^{20, 21}

Tabla 2. Comparación entre los diferentes marcadores de inflamación/infección.²¹

Marcador de Inflamación	Respuesta específica a la infección	Sensibilidad frente a la inflamación	Ventajas	Desventaja
PCT	Alta	Limitada en Infección leve y alta en procesos severos	Rápida elevación Estabilidad Vida media 25-30hrs Niveles normales estrechos	Precio Poco sensible en infección leve o local Posible inducción por procesos no infecciosos
PCR	Moderada	Moderada	Barato Accesible	Especificidad limitada Elevación a las 12-24hrs

				No diferencia etiología bacteriana ni severidad
Temperatura	Baja	Alta	Fácil de medir Muy sensible	Muy inespecífica
Leucócitos	Baja	Alta	Fácil de medir Relativamente sensible	Muy inespecífica Falsos negativos y positivos
Citocinas (IL-6)	Baja	Alta	Muy sensible Rápida elevación	Vida media corta/Caro Inestable en muestras Inespecíficas No relación con severidad



5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Material Biológico

Las semillas utilizadas para el desarrollo experimental fueron proporcionadas por el Instituto de Ecología, colectadas directamente de los árboles de *Dodonea viscosa* (L), Jacq. (*Sapindaceae*), que crecen tanto en la parte alta como en la baja del Pedregal (Lomas del seminario y Reserva del Pedregal de San Ángel en Ciudad Universitaria; respectivamente).

Las semillas de *Dodonea viscosa* presentan testa impermeable (semillas testa-dormantes), por lo tanto antes de someter las semillas al tratamiento de priming natural, y llevar a cambios en la hidratación de las semillas, éstas fueron previamente sometidas a un tratamiento denominado de escarificación, el cual consiste en sumergir a las semillas por 2 min. en H₂SO₄ concentrado. Las semillas se enjuagaron y se dejaron secar a temperatura ambiente y posteriormente se realizó el tratamiento de priming natural.

Para llevar a cabo el priming natural, las semillas se colocaron en telas de organza, y a su vez en jaulas metálicas, las cuales se enterraron superficialmente bajo la sombra de árboles y que se le denominará en adelante tratamiento en bosque. Otro lote se enterró en una zona donde escaseaba la vegetación y entonces este tratamiento le llamamos priming en claro. El tiempo del priming fue de 2 meses.

5.2. Germinación

El lote control fue sometido al tratamiento de escarificación previamente descrito. Posteriormente, tanto las semillas del lote control como las que fueron sometidas a los tratamientos de priming natural, se calentaron en agua a 72°C, se esperó hasta que la temperatura bajará a 42°C, y se secaron cuidadosamente sobre papel Whatman,



posteriormente la germinación de las semillas se llevó a cabo en Agar al 1%, a 29-30°C por distintos tiempos que incluyen 12, 24, 48 y 72 horas. Se registró la población de semillas que germinaron en cada lote.

5.3. Cuantificación de carbohidratos solubles

5.3.1. Extracción de carbohidratos solubles: glucosa, fructosa y sacarosa.

Se molieron en N₂ líquido las semillas hasta obtener un polvo fino. Se pesaron 100 mg de tejido y se extrajeron los carbohidratos con 1 mL de etanol (80% v/v) a temperatura de ebullición, la mezcla alcohólica se trasvasó a un tubo de ensaye. Al remanente del mortero se le agregó 1 mL de agua a temperatura de ebullición tratando de moler perfectamente, este extracto se mezcló con el del extracto alcohólico.

Posteriormente la mezcla alcohólica se centrifugó en tubos Microfuga por 10 minutos a 2,500 rpm. El sobrenadante se separó y se colocó en un tubo de ensaye que se calentó a 70°C en un bloque de calentamiento, la pastilla obtenida se resuspendió en un volumen de 100 a 200 µl de agua destilada. El extracto se guardó a -20°C hasta su utilización.

5.3.2. Cuantificación de azúcares solubles: glucosa, fructosa y sacarosa.

La cuantificación de glucosa y fructosa se llevó a cabo a través de un método enzimático, según se describe en Ramírez, 2007. Brevemente, 10µl de la muestra problema se hicieron reaccionar por 20 min a temperatura ambiente, con 200 µl de una mezcla enzimática que contenía 1.0 U/ml de hexocinasa y 1.0 U/ml de glucosa-6P deshidrogenasa (G6PDH). La glucosa como la fructosa se fosforilan, y sólo la Glucosa-6P es usada por la G6PDH, se produce una cantidad equimolar de NADPH y se lee a 340nm, la absorbencia obtenida fue directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.



Después de la primera lectura, se le añadió al mismo pozo de reacción 1.2 U/ml glucosa-6P isomerasa, la cual cataliza la conversión de la fructosa-6P en glucosa-6P (que no reaccionó en el paso anterior) y entonces la G6PDH ya puede usar este sustrato, se hizo una segunda lectura y ahora el incremento en absorbencia a 340nm corresponde a la sumatoria de la glucosa de la primera determinación, más la concentración de fructosa.

Para la determinación de sacarosa se realizó una hidrólisis en medio ácido de la sacarosa de la muestra (12µL máximo), adicionando invertasa de levadura de SIGMA (4µL de una solución de 80 mg/mL de invertasa disuelta en acetato de magnesio 100mM a pH 4.5), se incubó por 2h a 37°C y posteriormente se determinó el contenido de glucosa y fructosa de acuerdo a lo antes establecido.

EL contenido de glucosa se calculó de la siguiente manera:

$$Glucosa = \frac{(Abs_m - Abs_b) * 0.00614F * Vol.}{Vol_{susp} * g_{tejido}} = mg / g_{tejido}$$

Abs : absorbancia _{λ_{340nm}}

F : factor de dilución

Vol : volumen de alicuota

Vol_{susp} : volumen de resuspensión

5.4. Medición de la actividad de invertasas ácidas

5.4.1. Obtención del extracto de invertasas ácidas.

Los extractos se obtuvieron según se describe en Pelleschi *et al.*, 1997. Brevemente, 500 mg de tejido se molieron en mortero con N₂ líquido. Después al polvo, se le añadieron 3 mL de amortiguador de extracción (HEPES/KOH pH 7.5, 5mM MgCl₂, 1mM Na₂EDTA, 2.6mM Ditiotreitól, 0.02% Tritón X-100) y se homogenizó perfectamente. Posteriormente se centrifugó a



12000 rpm por 5 min a 4°C, el botón contenía a la invertasa de pared celular, mientras que en el sobrenadante se encontraban las invertasas solubles. El sobrenadante se desaló y concentró usando tubos Amicon Ultra-4 marca Millipore (No. de catalogo UFC801096). El extracto, que contenía a las invertasas solubles se guardó a -70°C hasta su utilización.

La invertasa de la pared celular se obtuvo a partir del botón obtenido en la primera centrifugación, el cual se resuspendió en 1mL de agua, posteriormente se centrifugó a 12000 rpm por 5 min, el botón se volvió a lavar dos veces más con agua. Al botón final se le añadió 1.5 mL de amortiguador de extracción adicionado con NaCl 1M y se homogenizó perfectamente, se dejó incubando a 4°C en agitación rotatoria durante toda la noche y se centrifugó nuevamente según se describió, ahora el sobrenadante contuvo a la invertasa de la pared celular. Se desaló como se describió anteriormente y se guardó de igual forma a -70°C hasta su uso.

5.4.2. Determinación de proteína.

El contenido de proteína en la muestra se determinó mediante el método de Bradford. En un tubo de microfuga, se agregó 200 µL de reactivo de Bradford (no. de catálogo: 500-0006, BioRad) y de 1 a 20 µL de muestra, se adicionó también agua destilada c.b.p. 800 µL. Posteriormente se agitó el tubo por 15 segundos y se observó la formación de un complejo de color azul el cual absorbe a una longitud de onda de 595 nm. Se utilizó una curva estándar de albúmina de suero bovino.

5.4.3. Determinación de actividad de las invertasas ácidas.

La actividad de invertasas ácidas se determinó según Bergmeyer y Bernt, 1974. En el caso de las invertasas vacuolares, se acidificaron 25µL del extracto desalado adicionando 25µL de acetato de sodio 200mM (pH 4.8). La reacción enzimática se realizó al añadir 10 µl de sacarosa



600mM, y se incubó a 30°C por 90 min. Para la invertasa de pared celular se acidificaron 40µL de extracto desalado con 12.5 µL de acetato de sodio 400mM a pH 4.8. La reacción enzimática se llevó a cabo al adicionar 7.5 µL de sacarosa 1M, e incubarse a 30°C por 90 min. En ambos casos se detuvo la reacción al adicionar 50 µL de NaH₂PO₄ 0.5mM a pH 7.0 y su posterior ebullición por 5 min. La glucosa y la fructosa formadas se cuantificaron enzimáticamente, al adicionar, a la mezcla anterior, 750 µL del medio de reacción que contiene HEPES/KOH 50mM a pH 7.0, 2 mM MgCl₂, 1mM EDTA, 1mM ATP, 1.5 U de fosfoglucosa-isomerasa, 2 U de glucosa-6 fosfato-deshidrogenasa, 2 U de hexocinasa y 0.5mM NADP⁺. Se incubó por 20 min a 30°C y por último se centrifugó a 12000 rpm por 5 min, el NADPH formado se midió a 340nm.

El cálculo de actividad de las invertasa se llevó a cabo mediante la siguiente fórmula:

$$Actividad = \left(\frac{Abs_{\lambda 340nm}}{6220 * t_{min} * mg_{proteína}} \right) * 1X10^6 = \frac{nmolGlu}{min mg}$$

5.5. Cuantificación de Lípidos

En un mortero se molieron 100mg de tejido adicionando 5mL de una solución de cloroformo-metanol (2:1) por 5 min, posteriormente en un tubo de ensaye se centrifugó a 3000 rpm por 5 min, el sobrenadante obtenido se trasvasó a un tubo de ensaye rotulado y a peso constante, el botón se homogenizó adicionando 2.5 mL de la misma solución y se centrifugó a 3000 rpm por 5 min, y el sobrenadante obtenido se mezcló con el primero. El tubo se calentó a 70° C en un bloque de calentamiento hasta que los solventes fueron eliminados. Finalmente el contenido de lípidos se calculó respecto a la diferencia de peso.



5.6. Análisis estadístico

Se llevó a cabo en todos los casos un análisis de varianza de dos vías con un nivel de probabilidad $P \leq 0.01$, utilizando un programa estadístico (Statistica, versión 6.1. StatSoft, Inc. 1984-1998 Tulsa, Ok. U. S. A.). En los casos donde se presenta diferencia significativa entre tratamientos, se realizó un análisis de comparaciones múltiples por el método de Tukey-Kramer. Indicando el valor del parámetro F respecto a los valores de grados de libertad, comparándolo con el valor de probabilidad (p) que proporciona el programa utilizado.



RESULTADOS

6.1. Perfil de germinación de semillas de *Dodonea viscosa* (L.) sometidas a dos tratamientos de priming natural

Para corroborar que el priming natural produce un aumento en la germinación de las semillas, se llevó a cabo el perfil germinativo de las semillas sometidas a los dos tratamientos de priming natural, el enterramiento en claro y en bosque, y se comparó con el perfil de las semillas que no fueron sometidas al tratamiento (Figura 8).

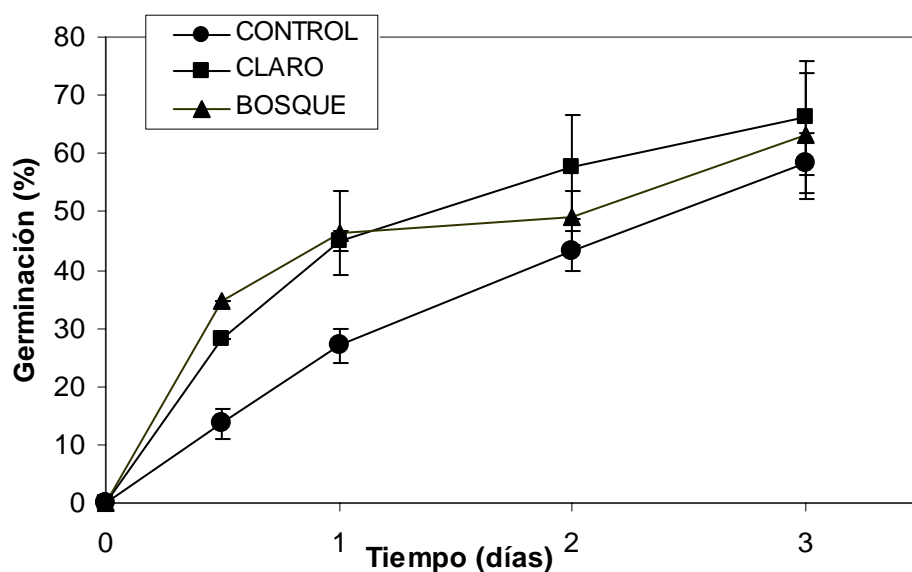


Figura 8. Curva de germinación de semillas de *Dodonea viscosa* que fueron sometidas a dos diferentes tratamientos de priming natural (Claro y Bosque). Datos expresados en medias \pm error estándar.

Se encontró que la capacidad germinativa de las semillas no presenta diferencia significativa entre tratamientos ($F(8,15) = 1.03$; $p = 1.4536$), sin embargo el número de semillas germinadas fue mayor en las semillas que fueron sometidas al tratamiento pre-germinativo, ya que éstas tuvieron entre un 29 a un 35% de germinación a las 12 horas, mientras que las semillas control presentaron el 11% de germinación. Sin embargo, conforme avanza el tiempo de germinación las semillas control alcanzan porcentajes similares a los obtenidos en las semillas tratadas.



6.2. Efecto del priming natural en el contenido de carbohidratos solubles, almidón y lípidos en las semillas de *Dodonea viscosa*

Para determinar si hubo un adelanto en los procesos metabólicos de la semilla, se determinó la movilización de reservas de carbohidratos y lípidos en las semillas sin hidratar, y como primera aproximación a estos cambios se midieron los contenidos de algunos carbohidratos y de lípidos totales en la semilla seca (Figura 9).

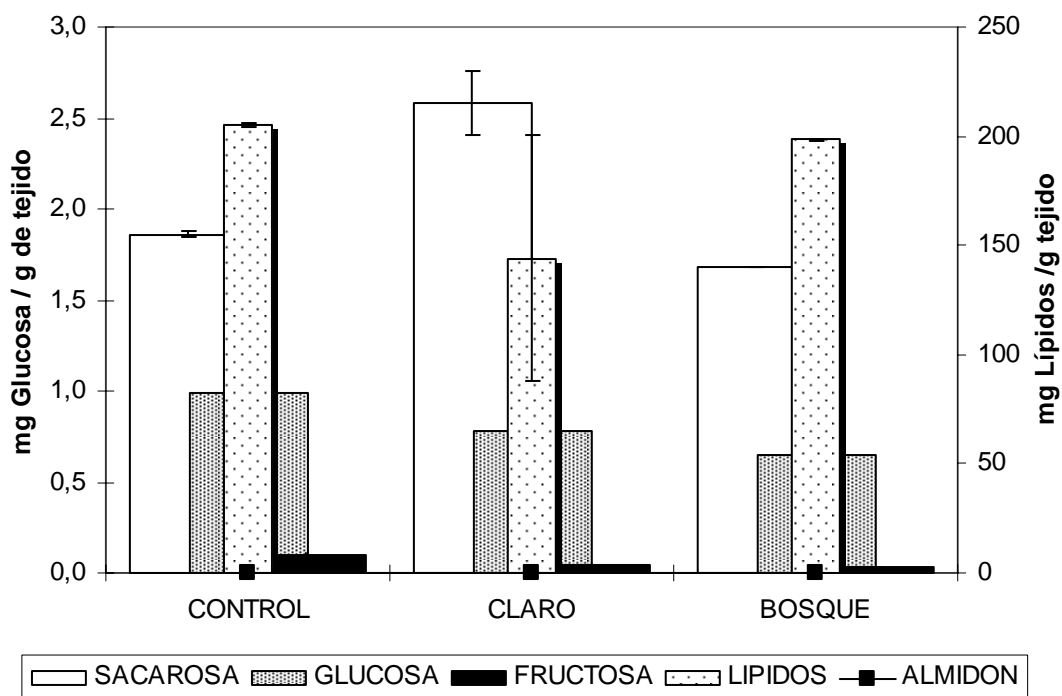


Figura 9. Contenido de carbohidratos y lípidos en semillas secas de *Dodonea viscosa*. Las semillas fueron colectadas y guardadas en el laboratorio o bien enterradas en claro o bosque. Datos expresados en medias \pm error estándar.

El contenido de sacarosa es significativamente mayor en todos los lotes de semillas, en comparación con el resto de los carbohidratos medidos, lo que sugiere que éste podría ser el principal carbohidrato de reserva de *Dodonea* y que será la fuente inicial de carbono para llevar a cabo su desarrollo, principalmente durante el inicio de la germinación (fases I y II). Los niveles de glucosa y fructosa en las semillas secas son distintos entre los diferentes lotes de semillas,



aunque no de manera significativa ($F(4,9)=6.32$; $p =6.5105$). Debido a que la cantidad de almidón es escasa en estas semillas y no presentó cambios significativos entre tratamientos con respecto al control, solo se determinaron las variaciones de los otros tres carbohidratos solubles a diferentes tiempos de la germinación.

Respecto al contenido de lípidos se encontró que fue hasta 100 veces mayor que el contenido de sacarosa, lo que sugiere que esta semilla principalmente almacena lípidos, por lo que se decidió determinar el perfil de lípidos durante la germinación de las semillas.

6.3. Efecto del priming natural en el perfil del contenido de carbohidratos y lípidos durante la germinación de las semillas de *Dodonea viscosa*

La movilización de los carbohidratos solubles durante la germinación se presenta en la Figura 10. Se encontró que el contenido de glucosa varió de manera significativa entre tratamientos ($F(2,89) = 12.84$; $p < 0.0001$) y como se puede observar en la figura 10A, hubo una disminución rápida de este carbohidrato durante el inicio del periodo germinativo, en las primeras 12 h, excepto en el lote tratado en claro, la glucosa se utilizó en las semillas control alrededor de un 42.5% y para el lote tratado en bosque en un 36.4%, mientras que en el caso del lote de claro se observó un incremento significativo de 23% ($F(8,89)=18.09$; $p < 0.0001$) y una subsiguiente disminución a valores muy semejantes a los presentados por el lote control. Posteriormente a las 24h los contenidos de glucosa no variaron para los lotes control y tratados en claro y hubo un aumento significativo en el caso del lote de bosque. Es probable que contenidos menores de glucosa, no sean compatibles con la vida por lo que las semillas mantienen un contenido constante.

La curva de cambio en el contenido de fructosa es similar en forma para los lotes de semillas sometidas al priming natural, sin embargo si se encontró diferencias significativas entre los



distintos tratamientos ($F(8,80)=98.73$; $p<0.0001$). Se puede observar, que la fructosa va aumentando de manera gradual hasta los 3 días de germinación. Pero el lote control presenta un perfil de fructosa diferente, ya que no se observan cambios importantes en el contenido de la misma a lo largo del periodo germinativo, manteniéndose aproximadamente en 0.13 mg de fructosa por g de tejido (Figura 10B). El aumento en fructosa podría indicar un aumento en el uso de la sacarosa.

Las curvas de contenido de sacarosa durante la germinación de los tres lotes de semillas tuvieron un comportamiento similar, ya que en todos los casos hubo un decremento en el contenido de este carbohidrato, sin embargo si hubo diferencia significativa entre tratamientos ($F(2,74)=16.99$; $p<0.0001$), presentando diferente velocidad de degradación entre sí, como se puede observar en la Figura 10C, distinguiéndose dos pendientes para cada caso, primero en la disminución de este carbohidrato durante las primera 12h y la segunda a partir de este tiempo hasta las 72h de germinación. La velocidad de degradación en las semillas control es mayor en las primeras 12h de germinación, 0.872 mg sacarosa / g tejido día, ya que a partir de este tiempo la velocidad disminuyó a 0.144 mg sacarosa / g tejido día manteniéndose prácticamente constante. En cuanto a las semillas pre-tratadas, un comportamiento similar fue observado en las semillas claro, aunque la velocidad de degradación en este lote fue 2.4 veces mayor que en las semillas control y después de este tiempo se mantiene prácticamente constante, ya que la velocidad de degradación disminuyó hasta 0.04 mg sacarosa / g tejido día, por lo que podemos decir que la movilización de sacarosa fue mas rápida en las semillas claro que el resto de los tratamientos, ya que en el caso de las semillas de bosque hubo una degradación gradual a una velocidad de 0.335 mg sacarosa / g tejido día, manteniendo el contenido de sacarosa por arriba del que presentaron las semillas del claro durante todo el tratamiento germinativo.

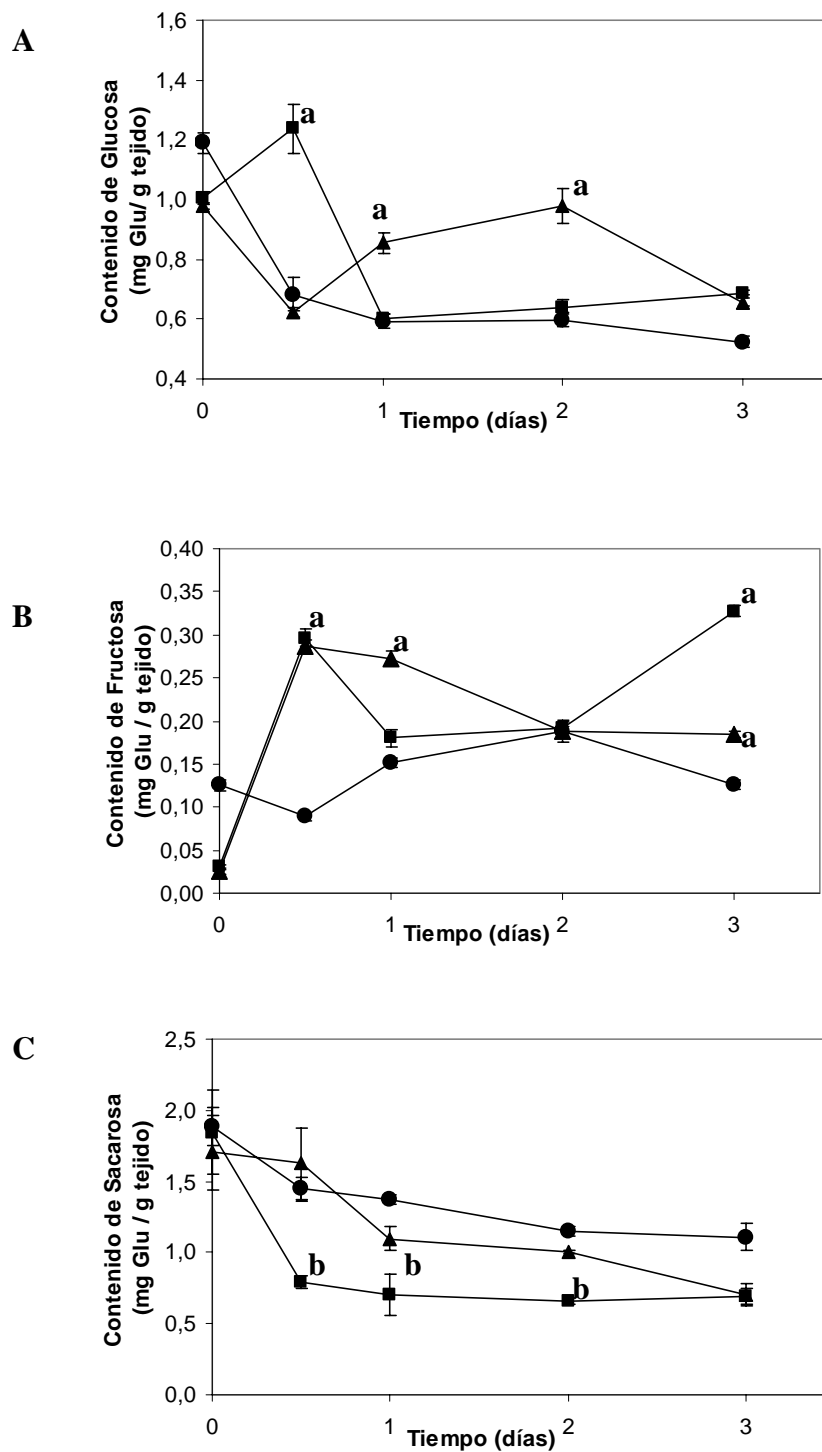


Figura 10. Perfil del contenido de carbohidratos durante la germinación de semillas de *Dodonea viscosa* sometidas a distintos tratamientos de priming. (A) contenido de glucosa, (B) contenido de fructosa y (C) contenido de sacarosa. ● Control, ■ Claro, y ▲ Bosque. Cada punto corresponde a la media \pm error estándar (a: puntos donde hay diferencia significativa con $p < 0.0001$ respecto al lote control, b: puntos donde se presenta diferencia significativa con una $p < 0.0585$ respecto al lote control).



Contrario a los cambios observados en el contenido de carbohidratos entre semillas sometidas al priming natural y control, el contenido de lípidos (Figura 11) a pesar de que se presenta una tendencia a disminuir gradualmente durante el periodo germinativo, no presenta cambios significativos entre el control y los tratamientos en cuanto a la velocidad de degradación ($F(8,15)= 0.4268$; $p=0.8871$), sin embargo cabe destacar que el contenido de los mismos en los lotes de semillas que fueron sometidas al priming natural, permaneció por debajo del contenido de lípidos en las semillas control a lo largo de la germinación.

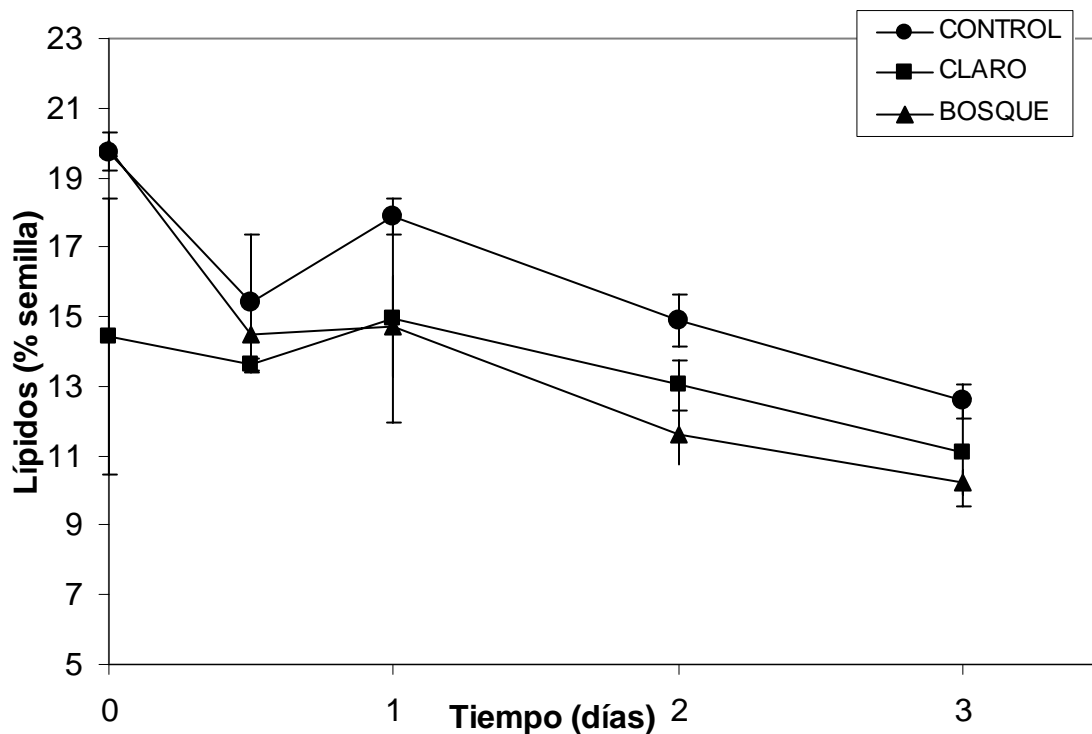


Figura 11. Perfil del contenido de lípidos durante la germinación de semillas de *Dodonea viscosa* sometidas a distintos tratamientos de priming. Datos expresados en media \pm error estándar.



6.4. Efecto del priming natural en la actividad de las Invertasas en las semillas secas y en la germinación de las semillas de *Dodonea viscosa*

En base a que la movilización de sacarosa, glucosa y fructosa es importante para establecer tanto el metabolismo glucolítico para la síntesis de ATP, el inicio del ciclo de pentosas para la producción de ribosas y NADPH, la síntesis de nuevos componentes de la pared celular entre otros; se determinó la actividad de las invertasas ácidas, enzimas importantes en el uso de la sacarosa y el establecimiento de gradientes tanto de sacarosa como de sus hexosas constituyentes.

Tomando en cuenta que en la célula se encuentran presentes tres tipos de invertasas (neutra, vacuolar y de pared celular) se determinó primero la actividad de cada una de éstas en semillas sin germinar.

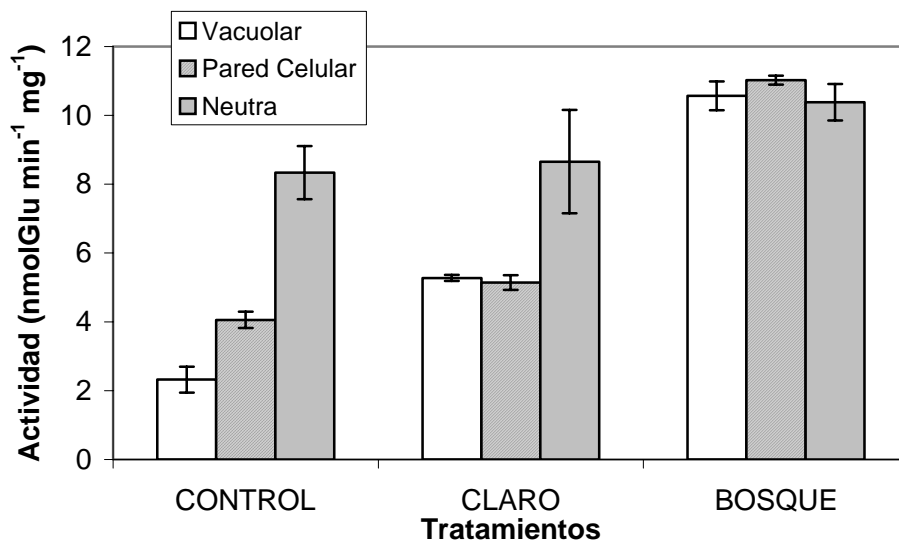


Figura 12. Actividad de las tres invertasas celulares en semillas secas de *Dodonea Viscosa* que fueron o no sometidas a tratamientos de priming. Datos expresados en medias \pm error estándar.

Como se muestra en la Figura 12 la invertasa neutra, entre los tres lotes de semillas, no presentó diferencia significativa ($F(4,9)=4.75$; $p=5.6005$), mientras que la actividad de las invertasas ácidas aumentaron por el tratamiento pregerminativo significativamente respecto al



control, más en el tratamiento en bosque que en el claro. Las invertasas vacuolares aumentan de 2.3 y 4.6 veces y las de pared celular de 1.3 y 2.7 con respecto al control en el lote de semillas enterradas en claro y bosque, respectivamente (Figura 12). Por lo anterior se decidió medir la actividad de las invertasas ácidas, que son las que mostraron cambio en las semillas secas que fueron sometidas al tratamiento y no continuamos midiendo a la invertasa neutra durante la germinación de las semillas, no sólo porque no cambió su actividad en las semillas tratadas, sino también por que en la literatura se menciona que pierde fácilmente la actividad durante la extracción (Roitsch, 2004), y si esto ocurría podríamos estar concluyendo sobre resultados poco reproducibles.

El perfil de la actividad de las invertasas ácidas durante la germinación de los tres lotes de semillas se muestra en la Figura 13, se encontró diferencia significativa entre tratamientos tanto en la invertasa vacuolar ($F(8,74)=12.69$; $p<0.0001$) como en la invertasa de pared celular ($F(8,89)=6.91$; $p<0.0001$). El perfil de actividad de la invertasa vacuolar en el control mostró pocos cambios, un aumento de 4.1 veces de 0 a 12h y posteriormente mantuvo su actividad hasta las 72h de la germinación. Mientras que, en las semillas con priming se observó que la actividad es mayor, con respecto al control, a todos los tiempos determinados, pero con diferencias entre ambos patrones. La actividad de invertasa vacuolar de las semillas tratadas con priming en bosque aumenta su actividad de manera constante conforme avanza la germinación, siendo entre 1.7-2.9 veces mayor que la curva de las semillas control. En cuanto a las semillas que fueron sometidas a priming en claro presentaron un máximo de actividad en las primeras 12 h de la germinación que es 5.1 veces mayor al valor presentado por las semillas control y posteriormente reduce su actividad a valores ligeramente mayores, aunque no significativos al control (Figura 13A).

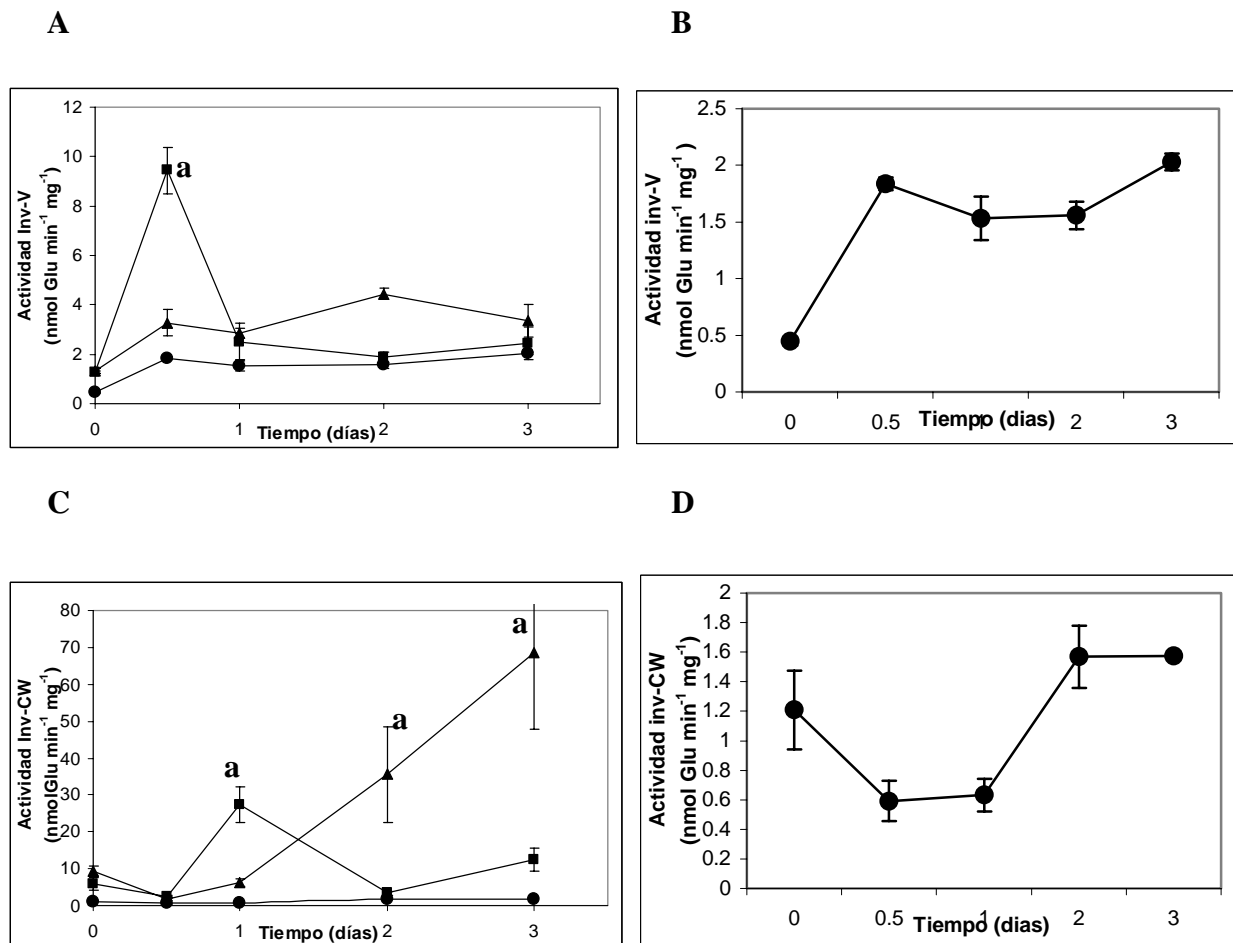


Figura 13. Efecto del Priming natural en la actividad de invertasas ácidas durante la germinación de semillas de *Dodonea viscosa*. (A) perfil de actividad de la invertasa vacuolar; (B) perfil de actividad de la invertasa vacuolar en el lote control, (C) perfil de actividad de la invertasa de la pared celular y (D) perfil de actividad de la invertasa de la pared celular en el lote control. ● Control, ■ Claro y ▲ Bosque. Cada punto corresponde a la media \pm error estándar (a: puntos donde hay diferencia significativa con $p < 0.0001$ respecto al lote control).

Al determinar la actividad de la invertasa ácida de la pared celular encontramos que es mayor que la que se encuentra en la vacuola en un intervalo que comprende de 2.9 hasta 7.3 veces para el caso de las semillas sometidas a priming (Figura 13B), ya que en el caso de las semillas control la actividad de invertasa de la pared celular fue menor 0.5-2 veces que la actividad en la vacuola.



La actividad de la invertasa de pared celular mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F(8,87)=6.91$; $p<0.0001$), por una parte se obtuvo que la actividad en las semillas control se mantuvo constante a lo largo del periodo germinativo (0.21 – 1.58 nmol Glu /min mg) mientras que los lotes de semillas que fueron tratadas con priming mostraron siempre una actividad mayor al control, pero de diferente perfil entre los tratamientos. El perfil obtenido para las semillas con priming en claro presentó un máximo de actividad a las 24h (43.1 veces mayor que las semillas control) y disminuye a valores cercanos al del control. Mientras que en las semillas de bosque el incremento se observó hasta las 48 h de germinación y se mantuvo hasta las 72 h siendo éste de 43.4 y 5.5 veces mayor que en los lotes de semillas control y claro respectivamente.

Por lo que en conjunto el efecto del priming natural produjo un aumento en la actividad de las invertasas de la vacuola así como en las de pared celular, a cero horas ambas fueron mayores, pero durante la germinación es cuando se hace evidente el cambio. Además, el tipo de priming natural en claro o bosque sí produce diferencias en el patrón de actividad de las invertasas ácidas, siendo evidente que el priming en claro produce un aumento a tiempos discretos de la germinación, mientras que el priming en bosque aumenta gradualmente la actividad de las invertasas ácidas y lo mantiene por tiempos más prolongados.

Tabla 2. Comparación entre los diferentes marcadores de inflamación/infección.²¹

Marcador de Inflamación	Respuesta específica a la infección	Sensibilidad frente a la inflamación	Ventajas	Desventaja
PCT	Alta	Limitada en Infección leve y alta en procesos severos	Rápida elevación Estabilidad Vida media 25-30hrs Niveles normales estrechos	Precio Poco sensible en infección leve o local Posible inducción por procesos no infecciosos
PCR	Moderada	Moderada	Barato Accesible	Especificidad limitada Elevación a las 12-24hrs No diferencia etiología bacteriana ni severidad
Temperatura	Baja	Alta	Fácil de medir Muy sensible	Muy inespecífica
Leucócitos	Baja	Alta	Fácil de medir Relativamente sensible	Muy inespecífica Falsos negativos y positivos
Citocinas (IL-6)	Baja	Alta	Muy sensible Rápida elevación	Vida media corta/Caro Inestable en muestras Inespecíficas No relación con severidad

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 PROBLEMA

¿Es la procalcitonina (PCT) lo suficientemente sensible y específica para el diagnóstico de sepsis en pacientes quirúrgicos?

2.2 HIPÓTESIS

2.2.1 Hipótesis nula

El nivel sérico de procalcitonina no es sensible ni específico para el diagnóstico de sepsis de origen quirúrgico.

2.2.2 Hipótesis alterna

El nivel sérico de procalcitonina es sensible y específico para el diagnóstico de sepsis de origen quirúrgico.

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Primarios

Determinar la sensibilidad y especificidad de la procalcitonina sérica en pacientes con sepsis de origen quirúrgico del Hospital General del Estado.

2.4 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad no existen estudios metodológicamente bien elaborados que permitan dilucidar la utilidad del procalcitonina sérica en pacientes con sepsis que requieran un manejo quirúrgico. Por este motivo surgió la pregunta que originó el presente estudio.

2.5 DISEÑO

2.5.1 Tipo de Investigación

Estudio observacional, transversal, abierto y descriptivo.

2.5.2 Grupo de Estudio

Pacientes con diagnóstico de sepsis de origen quirúrgico que ingresen al servicio de Urgencias y posteriormente a la Unidad de Cuidados Intensivos.

2.5.3 Tamaño de la Muestra

En la Unidad de Cuidados Intensivos de este Hospital, se reciben alrededor de 50 pacientes mensualmente, de los cuales 10 tienen el diagnóstico clínico de sepsis de origen quirúrgico, haciendo un total de 120 pacientes al año, por lo que en este caso se ha tomado una muestra del 40% para efectos de estudio, lo que implica que los modelos de estadística diferencial resulten altamente confiables.

2.5.4 Criterios de Inclusión

Pacientes con datos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, con foco infeccioso comprobado o sospecha del mismo, que requieran manejo



RESULTADOS

6.1. Perfil de germinación de semillas de *Dodonea viscosa* (L.) sometidas a dos tratamientos de priming natural

Para corroborar que el priming natural produce un aumento en la germinación de las semillas, se llevó a cabo el perfil germinativo de las semillas sometidas a los dos tratamientos de priming natural, el enterramiento en claro y en bosque, y se comparó con el perfil de las semillas que no fueron sometidas al tratamiento (Figura 8).

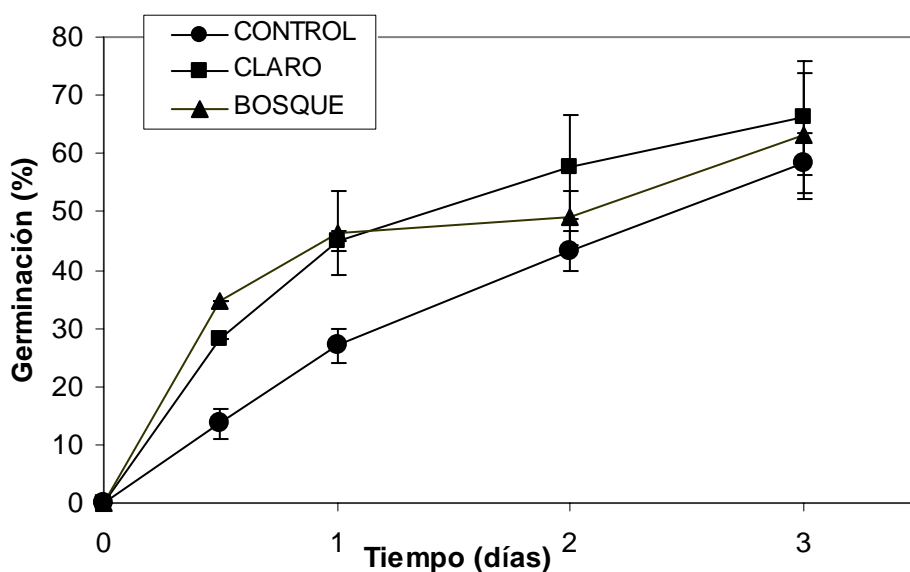


Figura 8. Curva de germinación de semillas de *Dodonea viscosa* que fueron sometidas a dos diferentes tratamientos de priming natural (Claro y Bosque). Datos expresados en medias \pm error estándar.

Se encontró que la capacidad germinativa de las semillas no presenta diferencia significativa entre tratamientos ($F(8,15) = 1.03$; $p = 1.4536$), sin embargo el número de semillas germinadas fue mayor en las semillas que fueron sometidas al tratamiento pre-germinativo, ya que éstas tuvieron entre un 29 a un 35% de germinación a las 12 horas, mientras que las semillas control presentaron el 11% de germinación. Sin embargo, conforme avanza el tiempo de germinación las semillas control alcanzan porcentajes similares a los obtenidos en las semillas tratadas.



6.2. Efecto del priming natural en el contenido de carbohidratos solubles, almidón y lípidos en las semillas de *Dodonea viscosa*

Para determinar si hubo un adelanto en los procesos metabólicos de la semilla, se determinó la movilización de reservas de carbohidratos y lípidos en las semillas sin hidratar, y como primera aproximación a estos cambios se midieron los contenidos de algunos carbohidratos y de lípidos totales en la semilla seca (Figura 9).

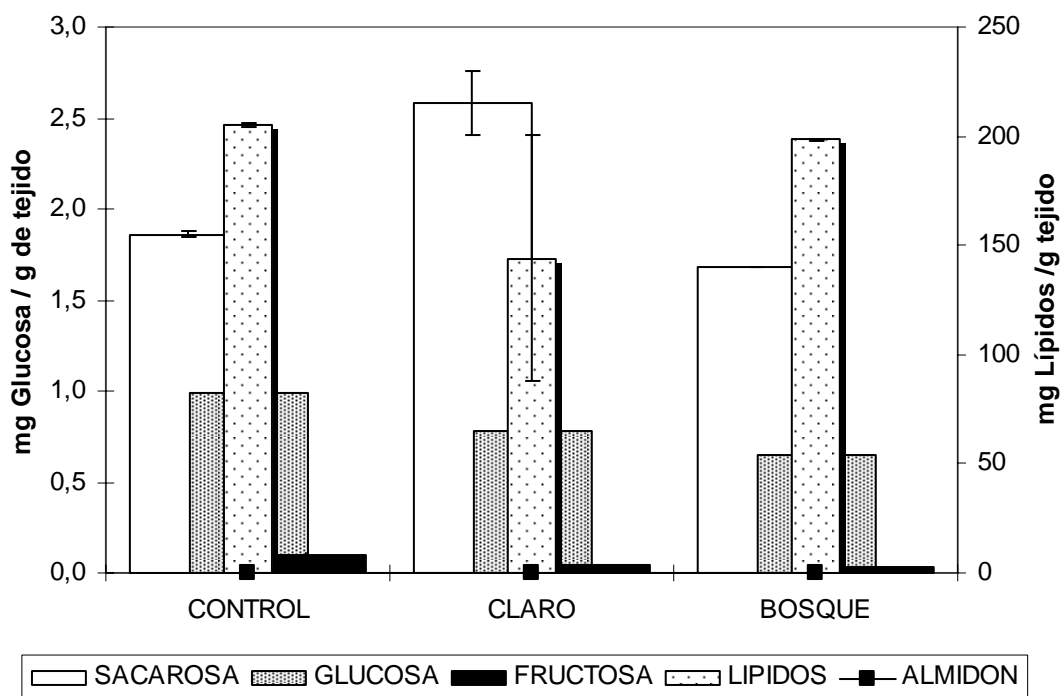


Figura 9. Contenido de carbohidratos y lípidos en semillas secas de *Dodonea viscosa*. Las semillas fueron colectadas y guardadas en el laboratorio o bien enterradas en claro o bosque. Datos expresados en medias \pm error estándar.

El contenido de sacarosa es significativamente mayor en todos los lotes de semillas, en comparación con el resto de los carbohidratos medidos, lo que sugiere que éste podría ser el principal carbohidrato de reserva de *Dodonea* y que será la fuente inicial de carbono para llevar a cabo su desarrollo, principalmente durante el inicio de la germinación (fases I y II). Los niveles de glucosa y fructosa en las semillas secas son distintos entre los diferentes lotes de semillas,



aunque no de manera significativa ($F(4,9)=6.32$; $p =6.5105$). Debido a que la cantidad de almidón es escasa en estas semillas y no presentó cambios significativos entre tratamientos con respecto al control, solo se determinaron las variaciones de los otros tres carbohidratos solubles a diferentes tiempos de la germinación.

Respecto al contenido de lípidos se encontró que fue hasta 100 veces mayor que el contenido de sacarosa, lo que sugiere que esta semilla principalmente almacena lípidos, por lo que se decidió determinar el perfil de lípidos durante la germinación de las semillas.

6.3. Efecto del priming natural en el perfil del contenido de carbohidratos y lípidos durante la germinación de las semillas de *Dodonea viscosa*

La movilización de los carbohidratos solubles durante la germinación se presenta en la Figura 10. Se encontró que el contenido de glucosa varió de manera significativa entre tratamientos ($F(2,89) = 12.84$; $p < 0.0001$) y como se puede observar en la figura 10A, hubo una disminución rápida de este carbohidrato durante el inicio del periodo germinativo, en las primeras 12 h, excepto en el lote tratado en claro, la glucosa se utilizó en las semillas control alrededor de un 42.5% y para el lote tratado en bosque en un 36.4%, mientras que en el caso del lote de claro se observó un incremento significativo de 23% ($F(8,89)=18.09$; $p < 0.0001$) y una subsiguiente disminución a valores muy semejantes a los presentados por el lote control. Posteriormente a las 24h los contenidos de glucosa no variaron para los lotes control y tratados en claro y hubo un aumento significativo en el caso del lote de bosque. Es probable que contenidos menores de glucosa, no sean compatibles con la vida por lo que las semillas mantienen un contenido constante.

La curva de cambio en el contenido de fructosa es similar en forma para los lotes de semillas sometidas al priming natural, sin embargo si se encontró diferencias significativas entre los



distintos tratamientos ($F(8,80)=98.73$; $p<0.0001$). Se puede observar, que la fructosa va aumentando de manera gradual hasta los 3 días de germinación. Pero el lote control presenta un perfil de fructosa diferente, ya que no se observan cambios importantes en el contenido de la misma a lo largo del periodo germinativo, manteniéndose aproximadamente en 0.13 mg de fructosa por g de tejido (Figura 10B). El aumento en fructosa podría indicar un aumento en el uso de la sacarosa.

Las curvas de contenido de sacarosa durante la germinación de los tres lotes de semillas tuvieron un comportamiento similar, ya que en todos los casos hubo un decremento en el contenido de este carbohidrato, sin embargo si hubo diferencia significativa entre tratamientos ($F(2,74)=16.99$; $p<0.0001$), presentando diferente velocidad de degradación entre sí, como se puede observar en la Figura 10C, distinguiéndose dos pendientes para cada caso, primero en la disminución de este carbohidrato durante las primera 12h y la segunda a partir de este tiempo hasta las 72h de germinación. La velocidad de degradación en las semillas control es mayor en las primeras 12h de germinación, 0.872 mg sacarosa / g tejido día, ya que a partir de este tiempo la velocidad disminuyó a 0.144 mg sacarosa / g tejido día manteniéndose prácticamente constante. En cuanto a las semillas pre-tratadas, un comportamiento similar fue observado en las semillas claro, aunque la velocidad de degradación en este lote fue 2.4 veces mayor que en las semillas control y después de este tiempo se mantiene prácticamente constante, ya que la velocidad de degradación disminuyó hasta 0.04 mg sacarosa / g tejido día, por lo que podemos decir que la movilización de sacarosa fue mas rápida en las semillas claro que el resto de los tratamientos, ya que en el caso de las semillas de bosque hubo una degradación gradual a una velocidad de 0.335 mg sacarosa / g tejido día, manteniendo el contenido de sacarosa por arriba del que presentaron las semillas del claro durante todo el tratamiento germinativo.

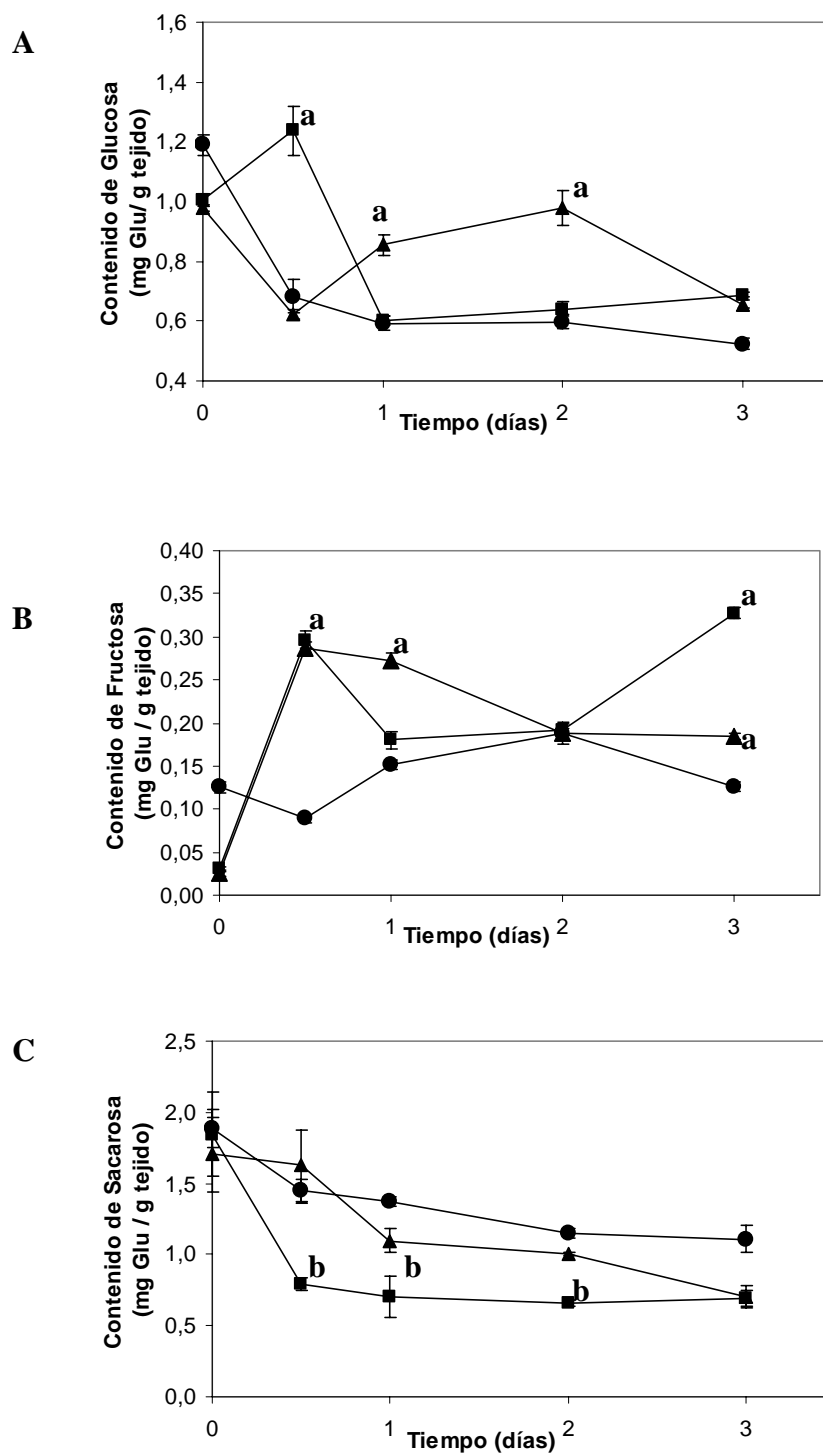


Figura 10. Perfil del contenido de carbohidratos durante la germinación de semillas de *Dodonea viscosa* sometidas a distintos tratamientos de priming. (A) contenido de glucosa, (B) contenido de fructosa y (C) contenido de sacarosa. ● Control, ■ Claro, y ▲ Bosque. Cada punto corresponde a la media \pm error estándar (a: puntos donde hay diferencia significativa con $p < 0.0001$ respecto al lote control, b: puntos donde se presenta diferencia significativa con una $p < 0.0585$ respecto al lote control).



Contrario a los cambios observados en el contenido de carbohidratos entre semillas sometidas al priming natural y control, el contenido de lípidos (Figura 11) a pesar de que se presenta una tendencia a disminuir gradualmente durante el periodo germinativo, no presenta cambios significativos entre el control y los tratamientos en cuanto a la velocidad de degradación ($F(8,15)= 0.4268$; $p=0.8871$), sin embargo cabe destacar que el contenido de los mismos en los lotes de semillas que fueron sometidas al priming natural, permaneció por debajo del contenido de lípidos en las semillas control a lo largo de la germinación.

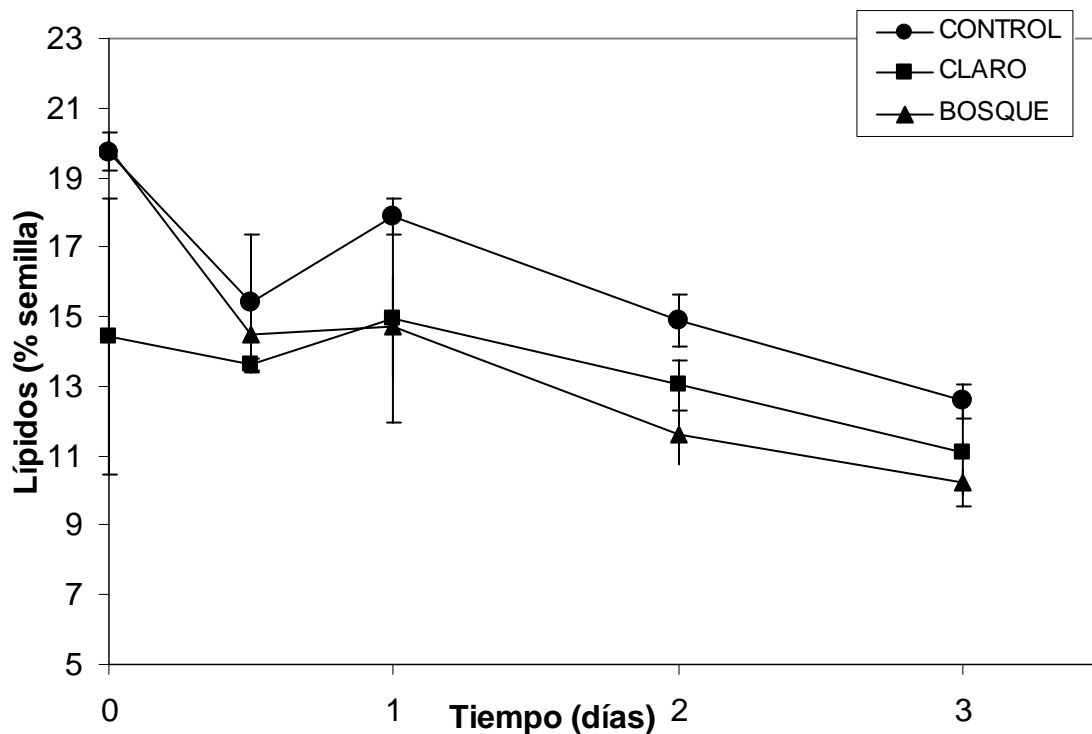


Figura 11. Perfil del contenido de lípidos durante la germinación de semillas de *Dodonea viscosa* sometidas a distintos tratamientos de priming. Datos expresados en media \pm error estándar.



6.4. Efecto del priming natural en la actividad de las Invertasas en las semillas secas y en la germinación de las semillas de *Dodonea viscosa*

En base a que la movilización de sacarosa, glucosa y fructosa es importante para establecer tanto el metabolismo glucolítico para la síntesis de ATP, el inicio del ciclo de pentosas para la producción de ribosas y NADPH, la síntesis de nuevos componentes de la pared celular entre otros; se determinó la actividad de las invertasas ácidas, enzimas importantes en el uso de la sacarosa y el establecimiento de gradientes tanto de sacarosa como de sus hexosas constituyentes.

Tomando en cuenta que en la célula se encuentran presentes tres tipos de invertasas (neutra, vacuolar y de pared celular) se determinó primero la actividad de cada una de éstas en semillas sin germinar.

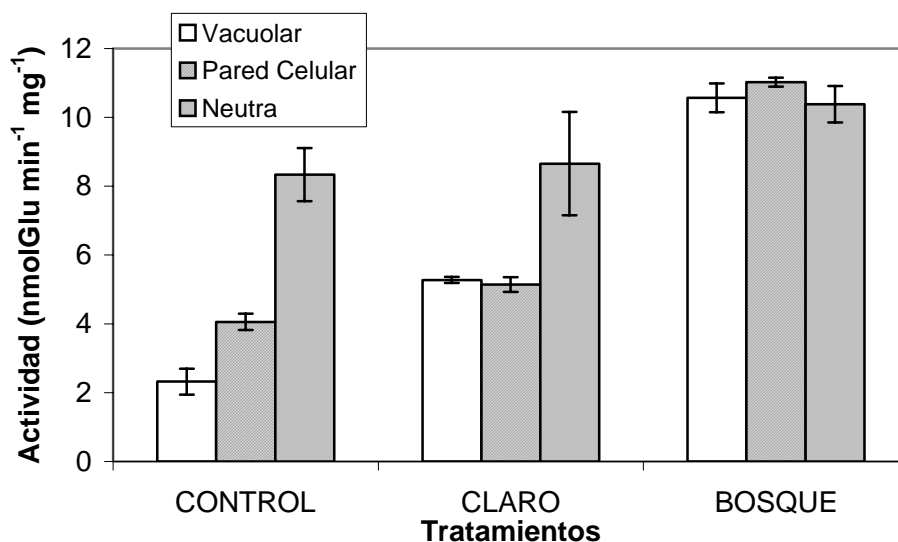


Figura 12. Actividad de las tres invertasas celulares en semillas secas de *Dodonea Viscosa* que fueron o no sometidas a tratamientos de priming. Datos expresados en medias \pm error estándar.

Como se muestra en la Figura 12 la invertasa neutra, entre los tres lotes de semillas, no presentó diferencia significativa ($F(4,9)=4.75$; $p=5.6005$), mientras que la actividad de las invertasas ácidas aumentaron por el tratamiento pregerminativo significativamente respecto al



control, más en el tratamiento en bosque que en el claro. Las invertasas vacuolares aumentan de 2.3 y 4.6 veces y las de pared celular de 1.3 y 2.7 con respecto al control en el lote de semillas enterradas en claro y bosque, respectivamente (Figura 12). Por lo anterior se decidió medir la actividad de las invertasas ácidas, que son las que mostraron cambio en las semillas secas que fueron sometidas al tratamiento y no continuamos midiendo a la invertasa neutra durante la germinación de las semillas, no sólo porque no cambió su actividad en las semillas tratadas, sino también por que en la literatura se menciona que pierde fácilmente la actividad durante la extracción (Roitsch, 2004), y si esto ocurría podríamos estar concluyendo sobre resultados poco reproducibles.

El perfil de la actividad de las invertasas ácidas durante la germinación de los tres lotes de semillas se muestra en la Figura 13, se encontró diferencia significativa entre tratamientos tanto en la invertasa vacuolar ($F(8,74)=12.69$; $p<0.0001$) como en la invertasa de pared celular ($F(8,89)=6.91$; $p<0.0001$). El perfil de actividad de la invertasa vacuolar en el control mostró pocos cambios, un aumento de 4.1 veces de 0 a 12h y posteriormente mantuvo su actividad hasta las 72h de la germinación. Mientras que, en las semillas con priming se observó que la actividad es mayor, con respecto al control, a todos los tiempos determinados, pero con diferencias entre ambos patrones. La actividad de invertasa vacuolar de las semillas tratadas con priming en bosque aumenta su actividad de manera constante conforme avanza la germinación, siendo entre 1.7-2.9 veces mayor que la curva de las semillas control. En cuanto a las semillas que fueron sometidas a priming en claro presentaron un máximo de actividad en las primeras 12 h de la germinación que es 5.1 veces mayor al valor presentado por las semillas control y posteriormente reduce su actividad a valores ligeramente mayores, aunque no significativos al control (Figura 13A).

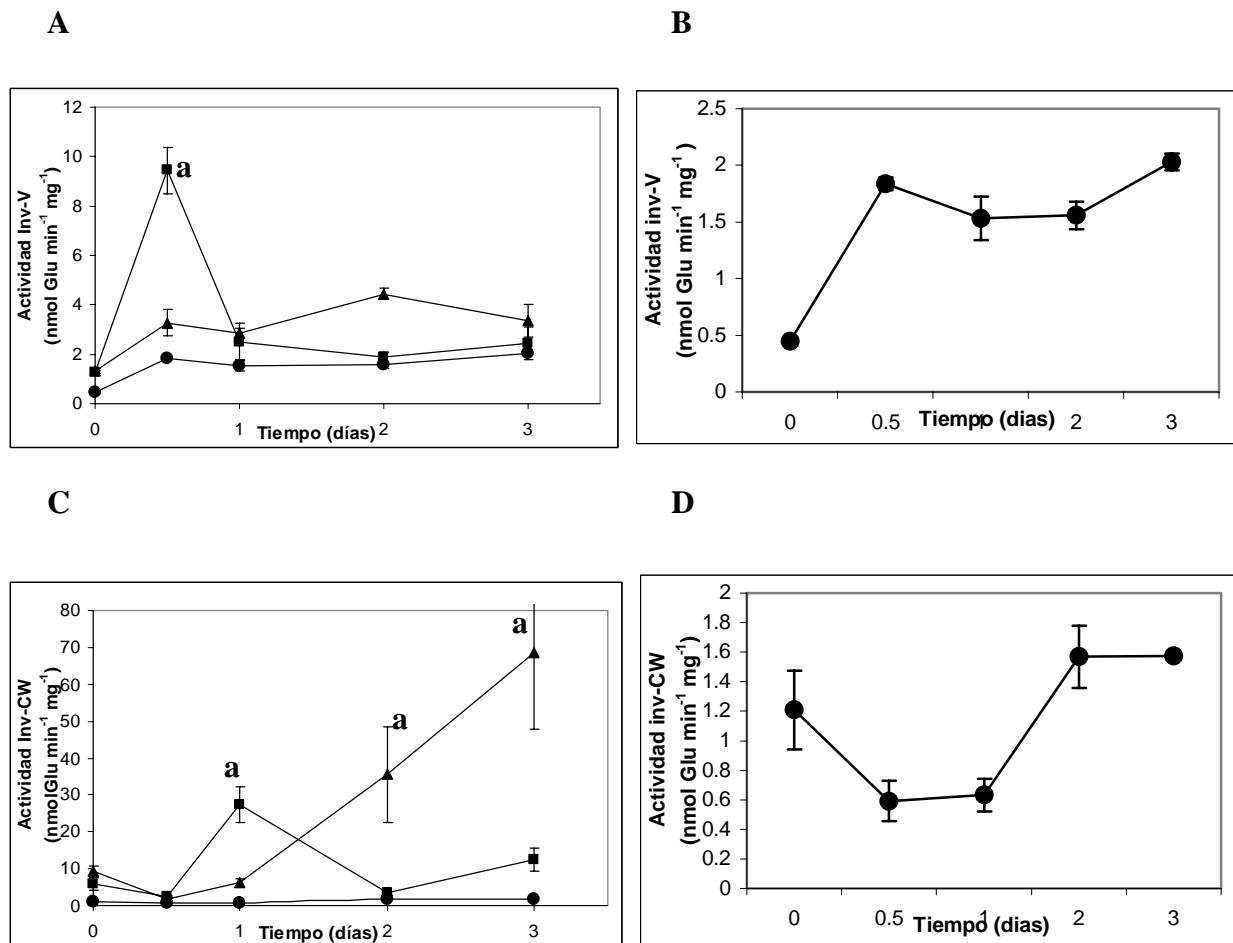


Figura 13. Efecto del Priming natural en la actividad de invertasas ácidas durante la germinación de semillas de *Dodonea viscosa*. (A) perfil de actividad de la invertasa vacuolar; (B) perfil de actividad de la invertasa vacuolar en el lote control, (C) perfil de actividad de la invertasa de la pared celular y (D) perfil de actividad de la invertasa de la pared celular en el lote control. ● Control, ■ Claro y ▲ Bosque. Cada punto corresponde a la media \pm error estándar (a: puntos donde hay diferencia significativa con $p < 0.0001$ respecto al lote control).

Al determinar la actividad de la invertasa ácida de la pared celular encontramos que es mayor que la que se encuentra en la vacuola en un intervalo que comprende de 2.9 hasta 7.3 veces para el caso de las semillas sometidas a priming (Figura 13B), ya que en el caso de las semillas control la actividad de invertasa de la pared celular fue menor 0.5-2 veces que la actividad en la vacuola.



La actividad de la invertasa de pared celular mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F(8,87)=6.91$; $p<0.0001$), por una parte se obtuvo que la actividad en las semillas control se mantuvo constante a lo largo del periodo germinativo (0.21 – 1.58 nmol Glu /min mg) mientras que los lotes de semillas que fueron tratadas con priming mostraron siempre una actividad mayor al control, pero de diferente perfil entre los tratamientos. El perfil obtenido para las semillas con priming en claro presentó un máximo de actividad a las 24h (43.1 veces mayor que las semillas control) y disminuye a valores cercanos al del control. Mientras que en las semillas de bosque el incremento se observó hasta las 48 h de germinación y se mantuvo hasta las 72 h siendo éste de 43.4 y 5.5 veces mayor que en los lotes de semillas control y claro respectivamente.

Por lo que en conjunto el efecto del priming natural produjo un aumento en la actividad de las invertasas de la vacuola así como en las de pared celular, a cero horas ambas fueron mayores, pero durante la germinación es cuando se hace evidente el cambio. Además, el tipo de priming natural en claro o bosque sí produce diferencias en el patrón de actividad de las invertasas ácidas, siendo evidente que el priming en claro produce un aumento a tiempos discretos de la germinación, mientras que el priming en bosque aumenta gradualmente la actividad de las invertasas ácidas y lo mantiene por tiempos más prolongados.



7. DISCUSIÓN

7.1. Efecto del priming natural en la germinación de las semillas de *Dodonea viscosa* (L.)

Los efectos del priming de laboratorio se encuentran bien documentados, obteniendo una más rápida y uniforme germinación, así como la recuperación e incremento de la viabilidad, eliminación de la latencia, incrementos en los rendimientos y el establecimiento de las plántulas bajo condiciones de estrés de tipo biótico y abiótico, además permite almacenar las semillas por largos periodos de tiempo (González-Zertuche, 2001; Zheng *et. al.*, 1994). Con esto en mente en el presente trabajo evaluamos si las semillas que fueron sometidas por 2 meses a un tratamiento de enterramiento en dos zonas distintas, claro y bosque, presentaban un comportamiento diferente en la movilización del carbono disponible en la semilla. En el primero de los modelos experimentales, el priming o tratamiento de enterramiento en claro, la vegetación es escasa y entonces se produce una tasa mayor de evaporación de agua del suelo, una menor cantidad de organismos en el suelo y temperaturas más altas (con una media de 45°C), lo que provee un medio más agresivo, pero seco, en el que las semillas pueden permanecer por más tiempo sin iniciar su germinación, y una vez iniciada por la aparición de las lluvias, se seca más rápidamente el suelo y por tanto la semilla detiene el recién iniciado metabolismo germinativo. En el segundo caso, el tratamiento de priming en bosque, las semillas fueron enterradas bajo la cobertura de la vegetación, esto propicia una disminución de la luz que las semillas reciben, pero también una pérdida gradual del agua en el suelo, lo que favorece una mayor población de organismos en éste. En el caso de que se inicie la germinación por la aparición de las lluvias, el suelo permanecerá un tiempo mayor húmedo, comparado con el suelo en claro, por lo que podrían adelantarse los eventos germinativos por un tiempo mayor.

El tratamiento de priming natural ocasionó que la germinación de las semillas de *D. viscosa* se adelantara al del lote control (29-35% a las 12h), si bien tanto control como priming alcanzan al



final porcentajes similares de germinación. No hubo diferencias significativas entre los lotes con priming, aunque el priming en bosque presentó a las 24 y 48h un menor pero no significativo porcentaje de germinación respecto al lote de priming en claro. Benítez (2005) reportó resultados similares obtenidos en estudios ecofisiológicos con *Dodonea viscosa*, donde no hubo diferencia significativa en la germinación de semillas entre diferentes tratamientos de priming natural, sin embargo una vez que se desarrolla la plántula y ésta es transplantada para estudios de campo, donde son crecidas a diferentes condiciones de temperaturas o exposición a la luz, se encontró que las plántulas provenientes de semillas que fueron sometidas a priming natural presentaron una mayor sobrevivencia, de 98%, con respecto a las plántulas que provenían de semillas que no fueron sometidas a este tipo de tratamientos, donde el porcentaje que se obtuvo fue de 30%; los parámetros que se usaron para cuantificar la sobrevivencia fueron el número de hojas, longitud del tallo y área foliar de las plántulas. Con lo anterior, podemos sugerir que aunque no se ve modificado el porcentaje de germinación de las semillas de *Dodonea viscosa*, si se pueden estar modificando diversos procesos metabólicos que proporcionen las herramientas bioquímicas necesarias, para que las semillas estén más preparadas para resistir las condiciones ambientales y sobrevivan.

7.2. Efecto del priming natural en la movilización de reservas de semillas de *Dodonea viscosa* (L.)

La toma de agua por las semillas les permite iniciar los procesos metabólicos que habían sido detenidos, así en el priming el incremento en la toma de agua de la semilla, le permitirá iniciar los eventos de ajuste y reparación de macromoléculas y organelos para el adecuado funcionamiento de la célula y su preparación para la expansión y división celular (Bewley y Black, 1994). Dentro de los eventos metabólicos iniciados se encuentra la movilización de las reservas de corto alcance, que son aquellas que se encuentran en los tejidos embrionarios, como sacarosa, glucosa, fructosa y en algunas especies lípidos (Srivastava, 2002). En la



semilla de *Dodonea viscosa* los porcentajes de lípidos y sacarosa son de 20.1 y 0.25%, respectivamente y son las reservas que generalmente se encuentran disponibles en el embrión.

Los lípidos son una reserva importante en las semillas de *D. viscosa*, el perfil del contenido de lípidos durante la germinación nos mostró que tanto las semillas de los lotes tratamiento como el control se encuentran activas usando esta reserva desde las 12 h, aunque las semillas que pasaron por el priming natural lo hicieron más rápidamente. Después de las 24h, se observa que los tres lotes presentan velocidades similares de degradación pero siempre las semillas tratadas presentan ligeramente menos lípidos que las semillas control. La movilización de las reservas de lípidos puede comenzar en las primeras horas de la germinación, sin embargo se ha documentado que la degradación masiva de esta reserva ocurre principalmente después de la salida de la radícula y que los esqueletos carbonados son transformados a carbohidratos (Bewley y Black, 1994).

En las semillas de *Dodonea viscosa* observamos que el inicio de la germinación para al menos una población de ellas comienza a las 12 horas y a las 48h ya encontramos el 50% de las semillas germinadas en el lote control. Mientras que las semillas que fueron tratadas, a las 12h ya presentan el 30% de germinación y a las 24h el 50% de ellas ya germinó, el priming produce un adelanto aproximado de 1 día en la germinación, respecto al lote control. Este avance en la germinación podría explicarse por la ocurrencia de la movilización de la reservas durante el priming, que en el caso de los lípidos encontramos al menos en el lote tratado en claro, semillas que presentan de inicio menos lípidos (1.4 veces) que los lotes de semillas control y bosque. Aún cuando las semillas tratadas en bosque comienzan con un contenido de lípidos similar al del lote control, a las 12 h encontramos menos lípidos en las semillas tratadas con respecto al



control, así durante el priming comenzaron a movilizar las reservas, o bien se sintetizaron o activaron a las enzimas necesarias para que esto ocurra.

En *Arabidopsis thaliana*, se ha encontrado que al inicio de la germinación hay movilización de lípidos pero no hay una participación del ciclo del glioxilato, vía que es una forma modificada del ciclo de los ácidos tricarboxílicos y que a través del uso de 2 moléculas de Acetil-CoA producirá una molécula de 4 carbonos, el succinato. Este último será el sustrato para los procesos biosintéticos y de respiración. El producto biosintético final de la degradación de lípidos en el estadio post-germinativo es la sacarosa, pero la movilización de lípidos en las etapas previas a la germinación se ha asociado con un aumento en la tasa respiratoria de las semillas (Eastmond y Graham, 2001). Así la movilización rápida al inicio de la germinación, podría llevar a la acetil-CoA hacia la respiración y reanudar la actividad de síntesis de ATP en la mitocondria, molécula necesaria para los procesos biosintéticos.

En plantas no se ha descrito como llegan los carbonos de la acetil-CoA a ser respirados antes de que se desarrolle totalmente el ciclo del glioxilato, sin embargo, en *S. cerevisiae* se ha encontrado que los productos de la degradación de los triacilgliceroles son bombeados a través del sistema carnitina/acilcarnitina, tanto en la mitocondria como en los peroxisomas. En plantas no se ha descrito la existencia del sistema de carnitina, lo que si se ha observado, por ejemplo en semillas de girasol y lechuga, es que los ácidos grasos son respirados durante la germinación, y que el ciclo del glioxilato no se encuentra funcional, ya que las dos enzimas clave del ciclo del glioxilato, la malato sintasa y la citrato liasa, aún no se han sintetizado (Raymond *et al.*, 1992, Salon *et al.*, 1988). Pero en *Sacharomyces cerevisiae*, el acetil-CoA producto de la β -oxidación en el peroxisoma se convierte a citrato y éste se transporta hacia la mitocondria.



En semillas mutantes de *Arabidopsis* denominadas icl-1 e icl-2, mutantes que son incapaces de sintetizar a la enzima isocitrato liasa, se encontró que las semillas presentan de 5 a 10 veces menos carbohidratos solubles, aumentan su tasa respiratoria, así como la cantidad de aminoácidos y ácidos orgánicos y se encuentran degradando activamente lípidos a una tasa mayor que las plantas silvestres, pero llegan a germinar y establecerse como plantas (Eastmond y Graham, 2001). Lo que prueba que el ciclo del glioxilato no es necesario para que la germinación ocurra, e incluso para que se establezca la planta como organismo autotrófico. Sin embargo, cuando las plantas mutantes son crecidas en oscuridad, las semillas germinan pero son incapaces de desarrollarse, ya que necesitan un aporte de carbono adicional, que en el caso de las plantas que estuvieron expuestas a la luz lo obtienen de la iniciada actividad fotosintética en las hojas.

Si consideramos entonces que los lípidos degradados son respirados, la otra reserva de carbono importante en la semilla de *D. viscosa*, que funcionará en la biosíntesis de los nuevos compuestos que necesita la semilla para llegar a germinar, son los carbohidratos y principalmente la sacarosa. Respecto a la movilización de sacarosa, encontramos que las semillas control movilizan la sacarosa a una velocidad de 0.872 mg glucosa/ g tejido día, mientras las semillas que fueron tratadas con priming mostraron nuevamente un adelanto en la movilización de las reservas durante la germinación, aunque partieron de contenidos similares de sacarosa, la velocidad de uso del carbohidrato fue mayor y más aun en las semillas del lote que pasó por el priming en claro (2.12 mg glucosa/ g tejido día , 12h), y se estabiliza entre las 24 y 72h en un contenido de sacarosa de 0.711 mg /g tejido. El lote que transcurrió por el priming de bosque degradó la sacarosa durante la germinación más lentamente que las semillas tratadas con priming en claro, pero alcanzó a las 72h un valor final de sacarosa similar y 1.57 veces menor que en el lote control. El aumento en la tasa de degradación de la sacarosa llevó a la semilla tratada con priming a presentar contenidos más elevados de fructosa y glucosa en



las primeras 24h de la germinación. Ninguna de las hexosas llegó a cero, lo cual es lógico si tomamos en cuenta, que estos carbohidratos además de ser fuente de carbono y energía, proporcionan la osmolaridad necesaria a la célula para mantener su turgencia.

En semillas de maíz se ha observado que la sacarosa se moviliza rápidamente en las primeras 8 horas de la germinación, con una disminución del 60% de la sacarosa que se encuentra en el eje embrionario, pero a las 24 horas comienza de nuevo a incrementarse, justo cuando la degradación de lípidos es máxima, lo anterior demuestra que la sacarosa es el carbohidrato que se utiliza en el metabolismo de la semilla posterior al periodo germinativo y que se mantiene a través de la reserva de lípidos (Martínez, 2007). En nuestras semillas de *D. viscosa*, sólo observamos la disminución de sacarosa, pero es probable que aún cuando no la veamos, la síntesis de sacarosa pueda estar ocurriendo de manera discreta, ya que el balance es negativo para la sacarosa, y es probable que si se realizara la medición de sacarosa a tiempos más prolongados podríamos observar que la sacarosa se incrementa.

7.3. Efecto del priming en el catabolismo de la sacarosa

En vista de que la degradación de la sacarosa es activa durante la germinación, determinamos la actividad de las enzimas que son más importantes en su movilización. La sacarosa se degrada a través de dos enzimas, la sacarosa sintetasa y la invertasa, la primera al producir fructosa y UDPglucosa, se conoce como una enzima ahorradora de energía, ya que la glucosa se encuentra en una forma activada que no requiere la inversión de ATP. La UDPglucosa se puede utilizar en la semilla para la síntesis de nuevos componentes de la pared celular, mientras que la fructosa necesariamente tendrá que ser fosforilada para entrar a la vía glucolítica (Sturm y Tang, 1999). Por otra parte, la actividad de las invertasas proporcionará glucosa y fructosa, estos carbohidratos podrán ser utilizados por el metabolismo, ya sea para entrar al ciclo de las pentosas, ya que se hace necesaria la producción de ribosas y NADPH



para la síntesis de nucleótidos y comenzar la reparación y síntesis de DNA y otros nucleótidos como RNA y coenzimas; además de la xilulosa que se usa en la síntesis de pared celular. Por otro lado, las hexosas pueden continuar con la vía glucolítica para sintetizar intermediarios biosintéticos (ciclo de Krebs) o bien enlaces de alta energía (ATP o NADH).

La actividad de hidrólisis de la sacarosa se vuelve entonces necesaria para que la germinación proceda. Las invertasas son enzimas que presentan diferente localización subcelular, las que se han caracterizado como importantes en favorecer o potenciar la entrada de nutrientes hacia las células son la invertasa vacuolar y la invertasa de pared celular. La invertasa vacuolar es capaz de degradar de manera activa a la sacarosa almacenada de manera transitoria en la vacuola, de tal forma que al degradarse la sacarosa, las hexosas producidas pueden ser transportadas hacia el citoplasma para su metabolismo. Pero al degradarse la sacarosa, la célula percibe que hay una disminución en su contenido y esto favorece la entrada de más sacarosa a la célula y a la vacuola, es por ello que se dice que la invertasa vacuolar favorece la demanda de fotosintatos (Roitsch, 2004).

Al medir la actividad de la invertasa vacuolar encontramos que las semillas control aumentan la actividad de la enzima en las primeras 12h de germinación (4.1 veces) y posteriormente a este tiempo se mantiene constante y vuelve a incrementarse ligeramente a los 3 días de la germinación; lo cual muestra que la actividad de la invertasa vacuolar es necesaria para la movilización de las reservas almacenadas en la vacuola. Al realizar el tratamiento de priming, la actividad de la invertasa vacuolar se incrementa, sin embargo, presenta diferencias importantes en cuanto a la forma de la curva y la magnitud del incremento, si el priming fue en bosque o en claro. En el primer caso (bosque), las semillas, desde un inicio y durante los tres días que se germinaron, mantuvieron un incremento gradual en la actividad de la enzima, lo cual estará proveyendo de manera constante de hexosas al hidrolizar la sacarosa que está en la vacuola.



Esta mayor actividad podría deberse a que durante el tiempo del priming se hubiera sintetizado mayor cantidad de proteína o de alguna isoforma para la enzima y por tanto esto nos lleva a una mayor actividad de invertasa, o bien a que la enzima que se encontraba en la semilla seca, al comenzar la hidratación, tomó la conformación óptima para su actividad, o bien la enzima fue modificada covalentemente para ser más activa durante el periodo germinativo, aunque para la invertasa no se ha documentado la modificación covalente, pero lo que sí se sabe es que existe un inhibidor proteico de la enzima (Roitsch, 2004).

En cuanto a la expresión diferencial de isoformas de enzimas, se ha documentado cuando menos en maíz, que el producto del gen de la *Invr1* disminuye gradualmente al cultivar células en suspensión durante 48h, mientras que la *Invr2* se reduce después de 18 h de cultivo. El regreso a los niveles normales del transcrito para ambos genes se produce cuando son colocadas a crecer las células en sacarosa, por lo que la regulación de la expresión de las diferentes isoformas depende de la disponibilidad de su sustrato (Xu et al., 1996). Si relacionamos que durante la germinación de las semillas de *Dodonea* que fueron sometidas a priming en bosque, hay un aumento constante en la concentración de glucosa y que esto coincide con el aumento sostenido en la actividad de la enzima, podríamos especular que alguna forma de invertasa se encuentra regulada positivamente por la glucosa.

Respecto a la modificación de la actividad por la presencia de la proteína inhibidora de la invertasa, podría haber ocurrido una disminución en la expresión de esta última, lo que nos llevaría a un aumento en la actividad de la invertasa. Sin embargo, hay pocos estudios sobre la proteína inhibidora y aún no se ha establecido con certeza el papel de ésta en la fisiología de la planta (Rausch y Greiner 2004).



Por otra parte, las semillas que pasaron por el priming natural en claro presentaron un máximo de actividad a las 12h que fue de 5.1 veces con respecto al control, y posteriormente disminuyó a valores cercanos aunque ligeramente más altos que los del control. El aumento inicial tan grande en la actividad de la invertasa vacuolar de las semillas tratadas con priming en claro, explica porque a las 12h en estas semillas encontramos un aumento importante en fructosa y una disminución en el contenido de sacarosa, y es posible que haya ocurrido una movilización elevada de la sacarosa a las 12h, por lo que la posterior caída de la actividad podría sugerir que ya no se hace necesaria su actividad porque ya movilizó la sacarosa almacenada en la célula. El aumento transitorio en la actividad de la enzima podría deberse nuevamente a la presencia de una isoforma más activa, o bien a cambios en los niveles de los diferentes carbohidratos que puedan regularlas. El máximo nivel de actividad que encontramos a las 12h coincide con el pico máximo de contenido de glucosa a ese tiempo, lo que sugiere que las hexosas están aumentando en el citosol y son disponibles al metabolismo, también encontramos que es el punto en el que se degradó más rápidamente la sacarosa y posterior a este tiempo ya no hay cambio en el nivel de sacarosa y disminuye el de la actividad de la invertasa vacuolar. La disminución en la actividad podría explicarse por la disminución en la concentración de su sustrato, la sacarosa, y también a que el incremento grande en glucosa en un tiempo previo, podría ser la señal para apagar la transcripción del gene. Por lo que debe de haber una regulación coordinada entre la disponibilidad de azúcares (glucosa o sacarosa) y la transcripción del gene.

En cuanto a la invertasa de la pared celular, también se encontraron incrementos en la actividad de éstas cuando las semillas fueron tratadas con priming, que conllevan a un patrón de actividad diferente al de las semillas control. Se observó que las semillas control mantuvieron una actividad baja y constante de sus invertasas de pared celular, lo que nos hace pensar que tal vez no se necesite aún de reservas externas que requiera que estas enzimas se encuentren



activas o bien que no se hayan emitido las señales que conlleven a funcionar a las mismas, ya que se sabe que las invertasas de pared celular están reguladas por estímulos ambientales, como es la respuesta a factores de estrés de tipo biótico y abiótico (Koch, 2004). En este sentido, la regulación de la actividad de las invertasas, que generalmente es en aumento en la actividad, se produce cuando hay un cambio en la concentración de diferentes carbohidratos, como glucosa y sacarosa. En los casos en los que no se ha observado cambio en la actividad, se ha propuesto que el tejido examinado presenta de por sí contenidos altos de azúcares o bien es un tejido almacenador, por lo que cambios discretos en la concentración de carbohidratos no afectan la actividad de la enzima. Sin embargo, cuando un tejido no es almacenador sino que se encuentra en activo crecimiento, pequeñas modificaciones en el contenido de azúcares sí impactan en un aumento en la transcripción del gene (Koch, 2004 y Sturm 1999).

En nuestro caso, las invertasas de la pared celular de las semillas que fueron tratadas con priming natural, están respondiendo a los cambios en los contenidos de glucosa y sacarosa, y debido a que estas semillas (las tratadas con priming) han pasado por un proceso de estrés como es la sequía o bien demás situaciones ambientales adversas, es probable que la semilla encienda los sistemas enzimáticos que requiere y que el suministro de nutrientes se esté llevando a cabo en este estadio de desarrollo.

Al igual que lo observado para la invertasa vacuolar, la actividad de la invertasa de pared celular mostró comportamientos diferentes entre los dos tratamientos de priming, uno mostrando un pico de actividad máximo y otro un aumento constante en la actividad. Cuando se lleva a cabo el tratamiento de priming en claro se obtiene el máximo en la actividad a las 24h que llega a ser 43.1 veces mayor que el control y la posterior disminución alcanza valores similares a los que presentan las semillas control. Mientras que la curva que presentaron las semillas del priming en bosque no presentó diferencias con respecto al control hasta las 24h de



germinación, pero a partir de las 48h la actividad se incrementa hasta 22.7 veces y continua en aumento durante el resto del periodo germinativo. Las diferentes condiciones que caracterizan a los ambientes en los cuales se llevó a cabo el priming, claro y bosque, pueden ser la principal causa por la cual se observan estas diferencias en la actividad de las invertasas de pared celular, ya que se ha reportado que las invertasas responden a estímulos ambientales así como a la presencia de patógenos, lo que nos indica la importancia de las invertasas de pared celular para la sobrevivencia y aclimatación de las semillas (Koch, 2004).

El priming en bosque le permite a la semilla responder al menos en la movilización de carbono mediada por invertasas, de manera gradual y sostenida, ya que sus dos invertasas ácidas, responden de igual manera. Mientras que las semillas que fueron sometidas al priming en claro, muestran un pico de actividad de sus invertasas ácidas, a tiempos y magnitudes distintas, pero con un comportamiento de actividad máximo transitorio. Esto nos habla de que la respuesta al estímulo ambiental, como se mencionó, es distinta y que la movilización de sacarosa a través de las invertasas es un buen marcador de que el ambiente puede ayudar o cambiar la expresión de las enzimas germinativas para poder contender con el estrés que a la semilla o joven plántula le depara.

Por otro lado, se sabe que la función de esta enzima no sólo es de proveer de carbohidratos o sustancias heterotróficas para el crecimiento, sino también esta a cargo de mantener un balance entre el contenido de sacarosa y hexosas requerido como mecanismos de señalización que regulan el desarrollo de las plantas (Roitsch, 2004), por lo cual una vez que la semilla ha germinado y hasta que se establezca como un organismo autotrófico necesita el importe de nutrientes provenientes de la movilización de reservas externas, que pueden estar siendo importados debido a la alta actividad de la invertasa de pared celular, pero sobretodo por la producción de las hexosas, glucosa y fructosa, que al ser transportadas al citoplasma,



mediante transportadores de hexosas, pueden generar señales o aumentar la actividad de otras enzimas celulares que son necesarias para el establecimiento de la plántula (Sherson *et.al.*, 2003).

La actividad de las invertasas resultaron ser entonces un buen marcador de que el priming aceleró la movilización de las reservas de carbono, preparando a la semilla para su posterior etapa de desarrollo, la planta en crecimiento, así como para las condiciones cambiantes del ecosistema en el que sobrevivirá.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIÓN

Dados los resultados de sensibilidad (82%) y especificidad (75%), considero de utilidad para el diagnóstico temprano de sepsis de origen quirúrgico, el uso de procalcitonina sérica en el servicio de Urgencias y UCI (*Unidad de Cuidados Intensivos*) de este Hospital.

En los casos con diagnóstico de pancreatitis aguda (*de cualquier etiología*) no es de utilidad la determinación de procalcitonina, ya que los resultados arrojados por el presente estudio, confirman lo descrito en la literatura actual; es decir, la procalcitonina puede tener resultados falsos positivos y falsos negativos, lo cual no cambiará el plan terapéutico a seguir.

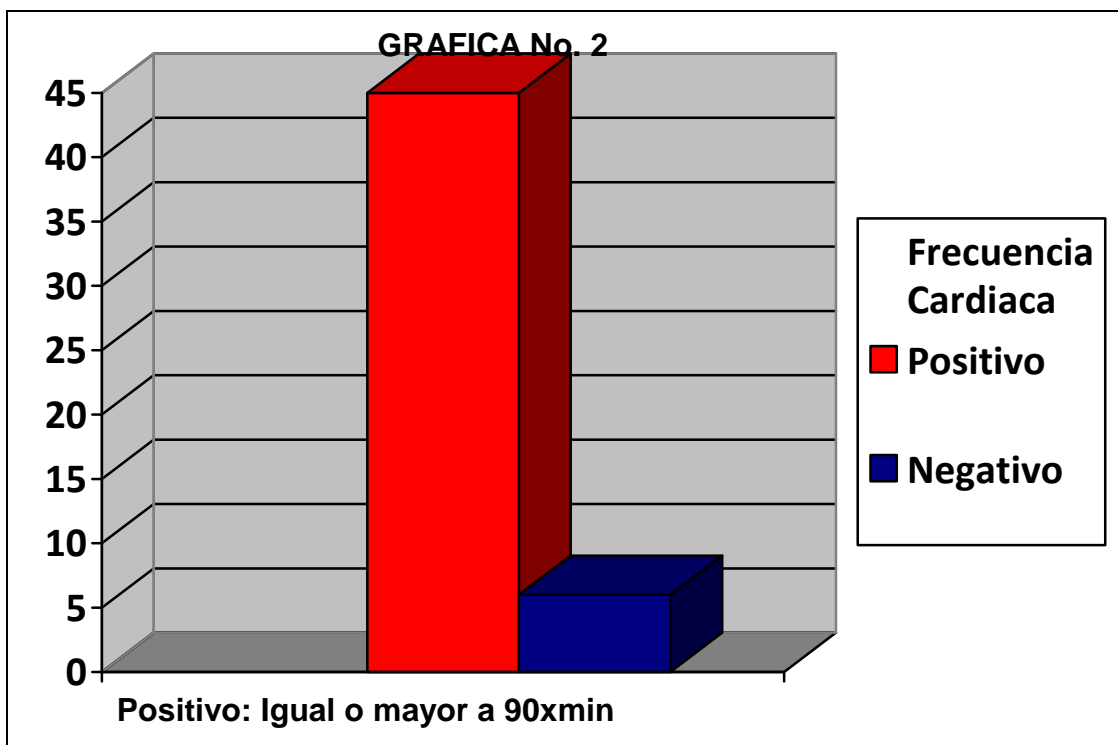
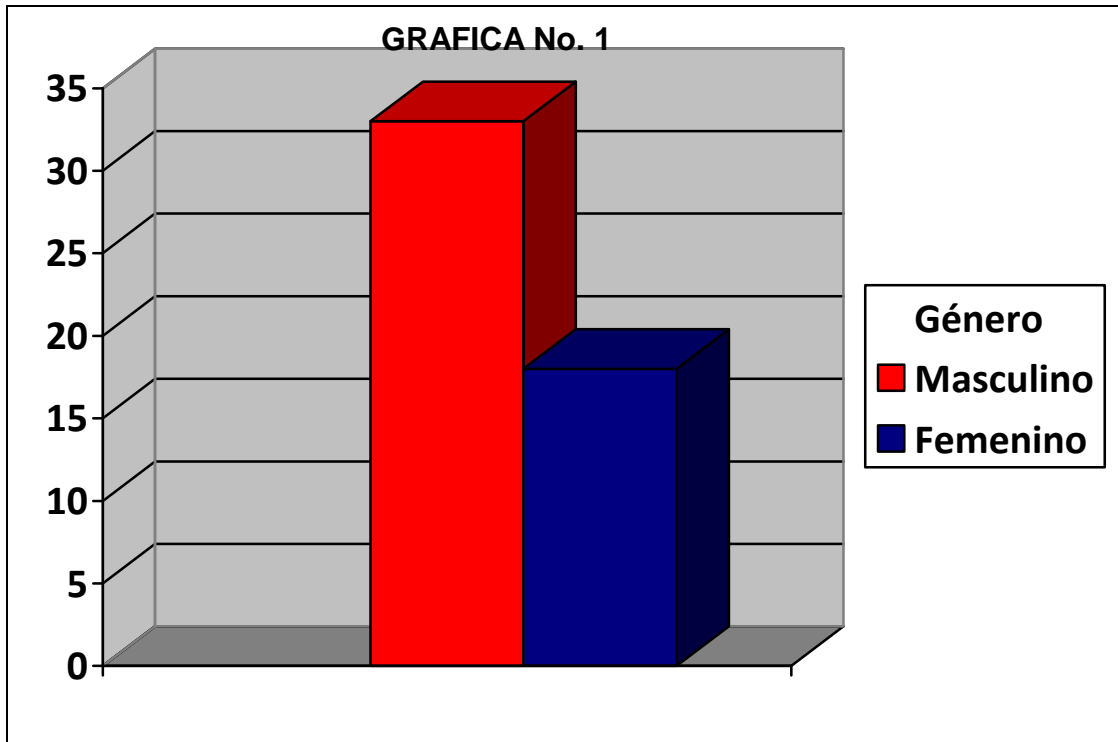
El presente estudio, podrá servir de piloto para posteriores investigaciones y/o análisis en este Hospital, sobre todo respecto a cuestiones de tipo administrativo (*Costo-Beneficio y días de estancia hospitalaria*) ya que los pacientes con diagnóstico de sepsis grave tienen periodos de internamiento prolongados, sobre todo en los casos de diagnóstico tardío, y ello condiciona costos muy elevados tanto para los familiares y la propia Institución, sin dejar de mencionar la alta mortalidad que existe en este subgrupo de pacientes.

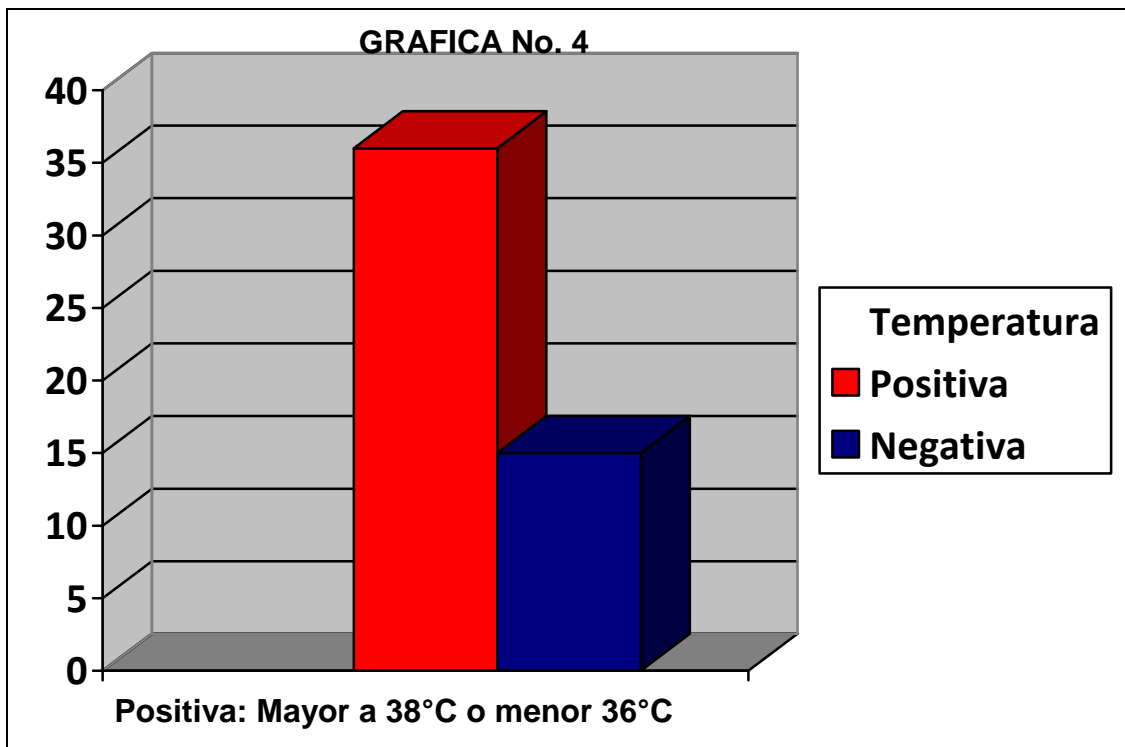
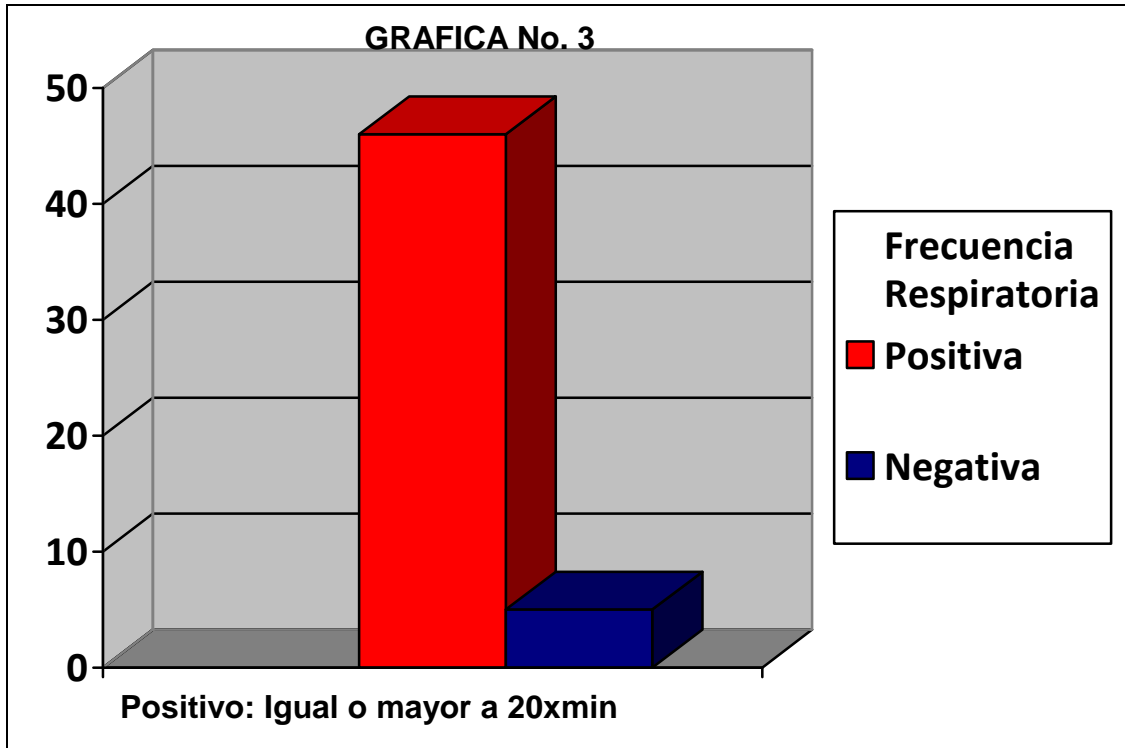
Finalmente, es conveniente mencionar que al igual que el resto de estudios paraclínicos, la determinación de procalcitonina sérica no sustituye al diagnóstico clínico de sepsis; sin embargo, su utilidad es de apoyo para normar conductas terapéuticas tempranas y disminuir morbi-mortalidad en un grupo de pacientes con enfermedades graves.

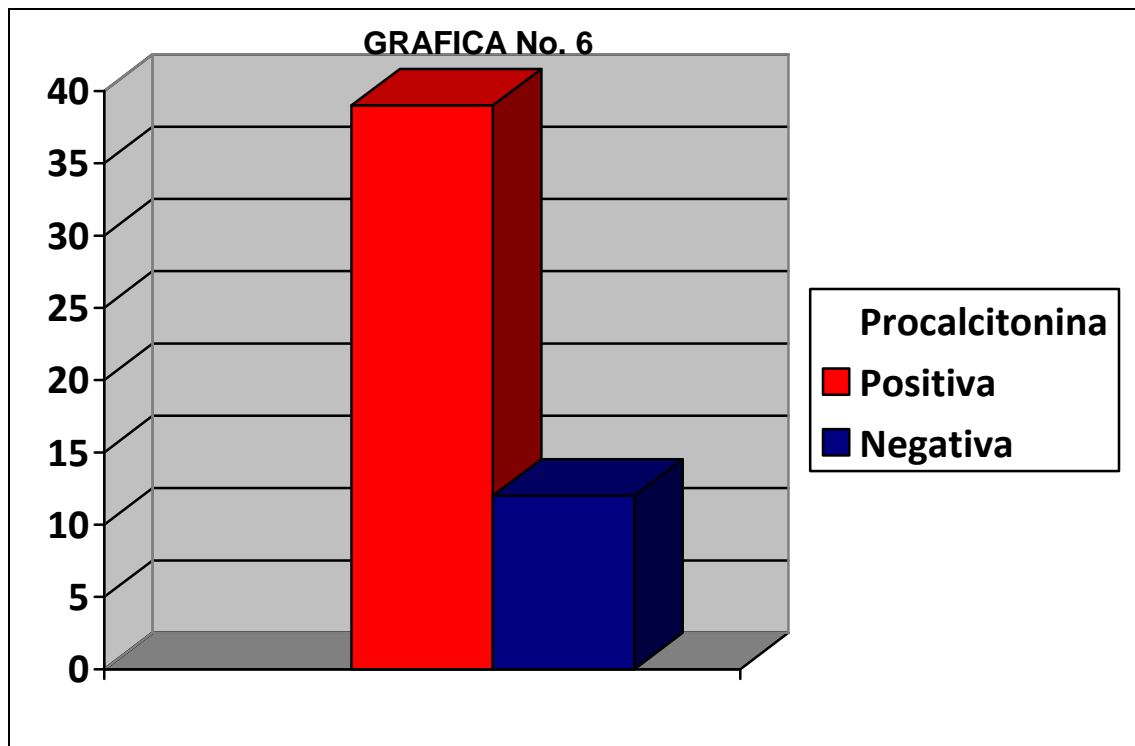
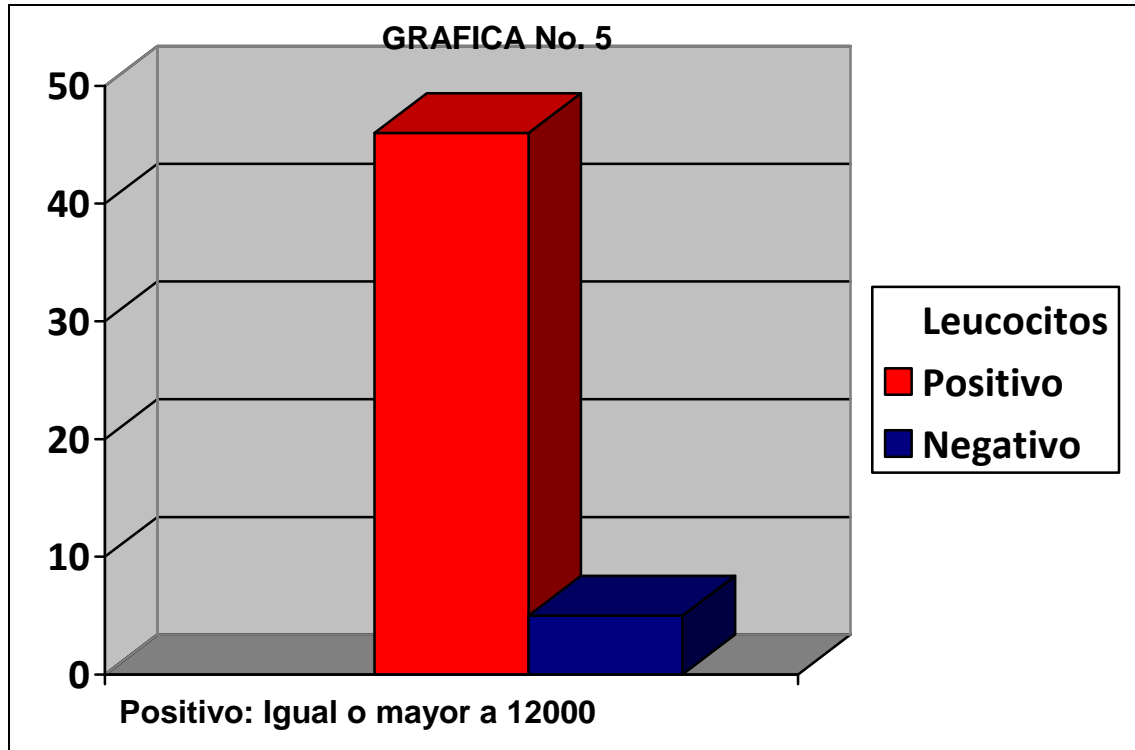
CAPÍTULO V

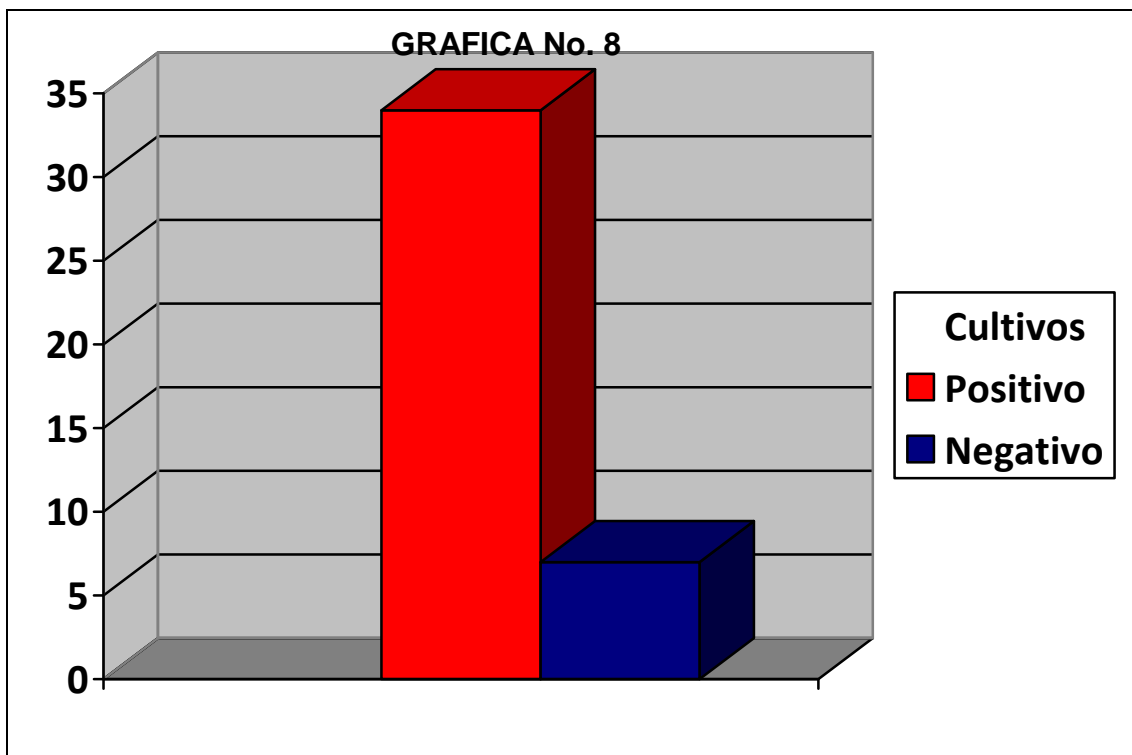
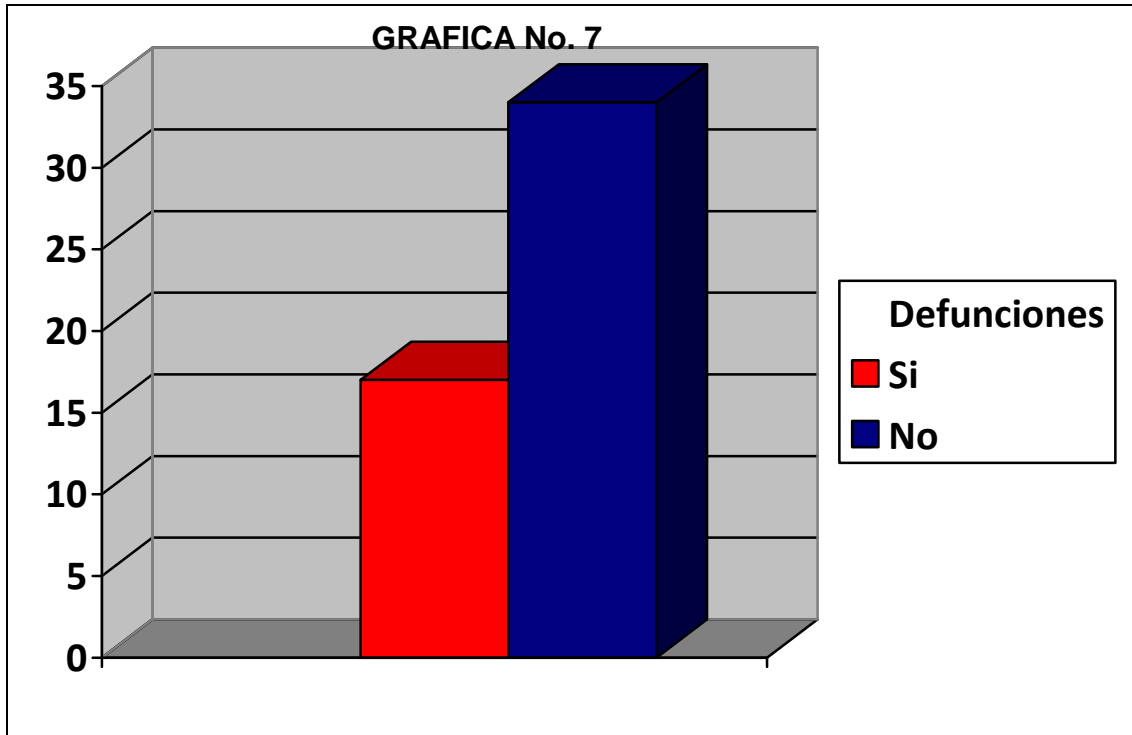
ANEXOS

5.1 GRÁFICAS









5.2 HOJA DE VACIAMIENTO DE DATOS

No.	Nombre	Expediente	Edad	Sexo		Diagnóstico	
				M	F	Ingreso	Egreso
1	Israel Antonio Peñuñuri	31244-05	26	1		Trauma penetrante de abdomen por arma PC	Trauma penetrante de abdomen por arma PC
2	Raul Fdo. Mtz. Arvizu	31512-05	17	1		Apendicitis	Apendicitis
3	Claudia Siqueiros Bacagua	31570-05	29		1	Coriocarcinoma PO Colostomia	Coriocarcinoma PO Colostomia
4	Rocha Anaya Leonardo	30615-05	28	1		Pancreatitis	Pancreatitis
5	Lino Rubio Vega	31362-05	32	1		Trauma abdominal PAF	Trauma abdominal PAF
6	Victoria Cano Ruiz	31337-05	49		1	Bilioperitoneo-Sepsis	Bilioperitoneo-Sepsis
7	Jose Luis Jerez Clemente	32400-05	31	1		Trauma abdominal PAF	Trauma abdominal PAF
8	Sergio Daniel ulloa	32562-05	34	1		Absceso hepatico Pioq.	Absceso hepatico Pioq.
9	Jose Fco. Cordova Cordova	770-99	65	1		Fascitis MTD	Fascitis MTD
10	Josefina Almada R.	16440-05	51		1	Adenocarcinoma Rectal	Adenocarcinoma Rectal
11	Jose L. Mosqueda	33102-05	47	1		Trauma abdominal PAF	Trauma abdominal PAF
12	Miguel Quintana Lopez	32892-05	35	1		Trauma abdominal PAF	Trauma abdominal PAF
13	Donald Abella	280-06	45	1		Pancreatitis B.	Pancreatitis B.
14	Matilde Alvarez Flores	7608-06	54		1	Hemorragia intracraneal	Neumonía/Empiema
15	Giovani Lopez Ayala	7762-06	31	1		Politraumatizado	Neumonía/Empiema
16	Antonio Mendoza Loreto	278-06	55	1		Sepsis postqx	Neumonía/Empiema
17	Ana Margarita Bernal Pérez	401-06	61		1	Apendicitis complicada	Choque séptico
18	Donald Abella	280-06	49	1		Pancreatitis	Pancreatitis
19	Maria Ema Zamora Noriega	1106-06	63		1	Pancreatitis	Pancreatitis
20	Roberto Cruz Estrella	15331-06	65	1		Sepsis abdominal	Sepsis abdominal
21	Francisco Palma Cruz	16176-06	39	1		Sepsis	Sepsis
22	Francisco Badilla Escalante	14615-04	57	1		Sepsis abdominal	Sepsis abdominal
23	Erika Cano Ceseña	17368-06	23		1	Sepsis abdominal	Sepsis abdominal
24	Jesús María Acosta Andrade	17712-06	59	1		Pancreatitis	Pancreatitis
25	Maria del Carmen Ruiz Lopez	7289-06	56		1	Abdomen agudo	Sépsis abdominal
26	Ezequiel U Orduño Haro	10085-06	17	1		Fascitis MPI	Choque séptico
27	Armida Quevedo Montijo	830-06	52		1	Dehiscencia de herida qx	Osteomielitis esternal
28	Benjamin Lujan acuña	9096-06	69	1		Revascularización cor.	Choque séptico
29	Tomás Ortega Gonzalez	3444-06	61	1		Fascitis MPD/Sepsis abd	Choque séptico
30	Juan Carlos Galicia Saavedra	13070-06	29	1		Fascitis MPD	Fascitis MPD
31	Francisca Charmonate Méndez	6896-06	84		1	Fascitis MPI	Fascitis MPI
32	José Ma. García Cordero	8127-06	27	1		Choque séptico	Sépsis abdominal/necrosis
33	José Luis Tapia Torres	11397-06	36	1		Sepsis abdominal	Sepsis abdominal
34	Giovani Lopez Ayala	7762-06	31	1		Politraumatizado	Empiema
35	Sergio Corrales	15802-06	54	1		Sepsis abdominal	Sepsis abdominal
36	Matilde Alvarez Flores	7608-06	54		1	Hemorragia intracraneal	Empiema
37	Joaquin Ríos Sanchez	7365-06	46	1		Fascitis MPI	Choque séptico
38	Socorro Alcantar Rojas	4696-06	39		1	Empiema	Choque séptico
39	Luis Aurelio Barreras Lopez	12428-06	30	1		Sx. Fournier	Sepsis abdominal
40	Mario Ruiz Ortiz	12939-06	56	1		Sepsis abdominal	Sepsis abdominal
41	Norberto Miranda Chávez	11899-06	54	1		Estatus epiléptico	Absceso en cuello
42	Mario Cruz Robles	182-99	63	1		Abdomen agudo	Gastroduodenitis
43	Isabel Yañez Parra	19027-06	77		1	Perforación Intestinal	Choque séptico
44	Esteban Ortega Espinoza	19354-06	17	1		Choque septico	Empiema
45	Fco. Jimenez Suárez	1691-02	45	1		Sepsis abdominal	Sepsis abdominal
46	Susuki Mtz. López	2553-06	32		1	Celulitis Brazo izq.	FascitisNecrotizante
47	Alma Delia Ramírez	27923-01	18		1	Pancreatitis	Pancreatitis
48	Griselda Dominguez	5338-06	22		1	Pancreatitis	Pancreatitis
49	Gpe. Gtz. Mtz.	21696-01	63		1	Sepsis abdominal	Choque séptico
50	Martha Sandoval	4050-84	47		1	Choque septico	Choque séptico
51	Rene Vásquez G.	12139-06	26	1		Trauma penetrante de abdomen por arma PC	Choque séptico

No.	Fecha de ingreso	Fecha de egreso	Días Estancia	Leucocitos	Neutrofilos	Bandas	Plaquetas	Linfocitos	Hb
1	28/11/2005	03/12/2005	5	24,300	22,600	NSR	134000	700	9.9
2	01/12/2005	10/12/2005	9	12200	10800	4	192000	700	14.7
3	02/12/2005	08/12/2005	6	13100	9600	4	313000	2300	11.4
4	15/11/2005	03/12/2005	18	11300	9400	0	373000	600	9.7
5	25/06/2005	12/07/2005	17	13800	9190	NSR	779000	3001	12.5
6	28/11/2005	20/12/2005	22	23120	2550	4	401000	1020	7.1
7	18/12/2005	02/01/2006	15	13700	12600	NSR	111000	500	8.5
8	20/12/2005	22/12/2005	2	21300	19200	8	600000	1300	11.8
9	26/12/2005	01/01/2006	6	22400	21100	NSR	123000	2200	13
10	19/12/2005	27/12/2005	8	11800	10400	NSR	229000	720	8.9
11	30/01/2006	12/02/2006	13	17800	15100	NSR	524000	1140	8.3
12	26/12/2005	09/01/2006	14	16800	15400	NSR	29000	1000	6.8
13	05/01/2006	22/01/2006	17	16900	14800	NSR	142	4600	13.3
14	14/05/2006	23/05/2006	9	17100	14900	NSR	322000	1900	16.5
15	16/05/2006	27/05/2006	11	30800	26400	NSR	253000	1500	11.7
16	06/01/2006	20/01/2006	14	10700	9700	NSR	154000	400	12.7
17	08/01/2006	09/02/2006	32	13800	10200	NSR	280000	2800	15.6
18	05/01/2006	26/01/2006	21	14400	12800	NSR	153000	600	13.7
19	21/01/2006	14/02/2006	24	13200	10400	1320	155000	1320	11.7
20	08/09/2006	27/09/2006	19	28900	23200	1734	67000	1630	12.4
21	20/09/2006	29/09/2006	9	17200	14900	NSR	146000	1600	10.3
22	29/09/2006	19/10/2006	20	21600	18400	NSR	341000	1600	18
23	06/10/2006	18/10/2006	12	24300	22500	243	406000	1200	10.3
24	03/10/2006	20/10/2006	17	15060	12048	1204.8	40000	1506	9.3
25	09/05/2006	19/05/2006	10	26000	23000	NSR	283000	2300	10.2
26	22/06/2006	20/08/2006	59	13700	11200	137	444000	1100	9.8
27	18/02/2006	15/03/2006	25	18100	16000	724	223000	600	10.3
28	15/07/2006	21/08/2006	37	16200	14100	162	168000	700	11.3
29	04/03/2006	25/05/2006	82	43900	29000	NSR	214000	18700	7.7
30	07/08/2006	28/08/2006	21	18700	16900	NSR	275000	900	11.8
31	02/05/2006	14/06/2006	43	27200	25700	NSR	81000	1000	12.6
32	24/05/2006	26/05/2006	2	5200	4800	NSR	189000	300	13.1
33	13/07/2006	22/08/2006	40	17800	16200	NSR	176000	1000	8.2
34	16/05/2006	01/06/2006	16	18400	15900	NSR	251000	1300	11.8
35	15/09/2006	01/10/2006	16	21400	18300	856	433000	1000	9.2
36	16/05/2006	25/05/2006	9	16500	14300	NSR	197000	900	10.3
37	13/05/2006	03/06/2006	21	5200	4600	43	66000	400	11
38	26/03/2006	30/03/2006	4	33900	30600	14	247000	2700	10
39	28/07/2006	04/08/2006	7	5300	3900	12	430000	700	10
40	05/08/2006	17/08/2006	12	20600	2100	NSR	21000	2100	9.7
41	20/07/2006	24/07/2006	4	8400	7900	NSR	15000	300	11.6
42	23/06/2006	01/07/2006	8	17100	7481	0	201000	496	7.8
43	03/11/2006	08/11/2006	5	20100	19500	0	163000	1200	10
44	08/11/2006	18/11/2006	10	38400	34400	4608	61000	1600	13
45	17/02/2006	04/03/2006	15	18700	16300	0	131000	1300	11
46	02/03/2006	17/04/2006	46	22060	20060	0	168000	1800	12
47	07/04/2006	17/04/2006	10	14600	12300	438	216000	2000	16
48	07/04/2006	19/04/2006	12	17000	15860	680	270000	1700	15
49	04/06/2006	07/06/2006	3	31700	30060	0	42000	900	9.2
50	20/06/2006	12/07/2006	22	21800	19300	872	288000	1300	11
51	24/07/2006	08/08/2006	15	16500	15400	1650	131000	1200	13

No.	Temperatura				Frecuencia Cardiaca				Frecuencia Respiratoria			
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
1	37.1	37.1	38.1	37	119	131	130	76	26	22	18	16
2	38	37	38.5	37.2	78	110	108	100	19	20	18	17
3	39	37	36.5	38.3	90	80	80	98	23	21	21	18
4	38	37.9	39	38	96	100	120	110	24	22	23	17
5	37.3	37	36	37	88	96	108	91	16	20	17	18
6	36	35	36.8	36	100	103	85	87	24	21	22	17
7	38	38	38	38.8	140	128	123	143	32	28	26	20
8	35.5	38.3	37.2	37	112	118	114	96	22	22	17	15
9	37	36	38	38	154	120	118	140	28	27	22	19
10	38	38.8	37.3	37.8	102	110	108	120	21	17	16	16
11	39	38	38	36.5	100	90	111	83	22	24	22	18
12	37.6	37.5	36	36.5	115	100	90	90	21	18	16	17
13	38	37	37	36	120	110	130	138	28	23	20	19
14	38	38	38	36	84	82	87	82	23	21	20	18
15	36	36	37	37	97	88	92	90	21	24	20	18
16	37.9	38	36	37	120	117	110	106	18	16	17	18
17	39.5	38.5	37	38	120	115	110	80	27	22	19	16
18	37.6	37.8	36.5	37	120	126	96	84	23	19	16	18
19	37.7	37	39	37.8	120	100	110	92	21	22	17	15
20	38	38.3	37.9	37	110	110	120	95	24	23	17	19
21	39.8	38.5	37.8	37	120	154	136	124	22	21	20	17
22	35.3	35.5	37.5	37	72	90	102	88	24	20	18	15
23	39	38	37	37	102	96	94	89	22	18	17	15
24	37	37.5	38	37	120	110	100	94	25	23	20	18
25	38.9	38	38	37.9	113	106	94	86	28	23	21	20
26	37.5	39	38	37.8	92	120	110	88	21	18	16	16
27	38.3	37.5	37.8	37	96	86	90	82	22	20	20	16
28	37.9	39	37	37	88	110	92	76	19	19	21	15
29	39	38	37.8	37.5	116	98	83	80	24	21	21	18
30	35.5	36	36.5	37	109	120	89	94	22	17	19	15
31	37.7	37	38	37.5	100	96	92	90	24	21	17	19
32	38.8	37.9	38	37	116	96	106	100	25	23	21	17
33	39	39	38	37.9	110	100	104	94	27	25	21	19
34	37.5	38	37.8	37.6	112	96	94	92	21	22	17	18
35	39.5	37.8	37	37	130	110	82	82	29	24	21	18
36	37.5	37.8	38	37.6	78	120	96	99	18	20	17	17
37	39	38.5	38	38.6	98	92	110	139	25	21	21	19
38	39	38	38	37	120	110	100	106	24	20	20	18
39	38	39	37	38	96	110	84	96	21	22	20	19
40	39	38	38	37.9	130	96	103	110	28	23	21	20
41	39	39	38	37.8	110	88	88	84	24	20	18	19
42	35	36.3	36.5	36.5	140	113	103	110	30	28	24	20
43	38	38	37.5	39	151	120	110	68	32	27	20	18
44	38.9	37	37.5	36	130	106	107	92	28	27	16	14
45	39	38.5	38	37.5	121	98	94	86	23	20	16	15
46	38	37.3	37.5	36.5	131	92	88	94	30	18	16	14
47	38.5	38.7	39.5	37.3	122	106	105	88	27	26	16	16
48	37	38.9	37.5	37.1	141	116	104	92	33	16	15	14
49	36.9	35	38	35	112	121	118	110	21	18	16	16
50	38	37	37	36	118	106	100	88	20	20	16	17
51	38	37.5	38	36.5	122	108	92	84	24	16	17	15

No.	Antibiotico	PROCALCITONINA (0=NEG)					
		Fecha de toma	No. de tomas	Valor dia 1	Valor dia 2	Valor dia 3	Valor dia 4
1	Cefta-Merop.	30/11/2005	2	10	2		
2	Meropenem	02/12/2005	2	10	10		
3	Metro-Cefta	02/12/2005	1	0			
4	Meropenem	17/11/2005	2	0.5	0		
5	Metro-Van-Cipro	12/07/2005	1	2			
6	Cefta-Merop.	10/12/2005	1	5			
7	Cefotax-Merop.	20/12/2005	2	10	2	0.5	
8	Metro-Cefta	21/12/2005	2	2	2		
9	clindamicina	28/12/2005	1	10	10		
10	Meropenem	02/01/2006	1	0			
11	Levofloxacino	30/01/2006	1	0			
12	Mero-Metro	30/01/2006	1	2			
13	Cefta-Levo	05/01/2006	1	0			
14	Moxifloxacino	18/05/2006	2	2	2		
15	Cefta-Amika	22/05/2006	1	2			
16	Imipenem	06/01/2006	1	<0.5			
17	Meropenem	09/01/2006	4	10	2	0.5	2
18	Levofloxacino	05/01/2006	1	0			
19	Meropenem	21/01/2006	3	0.5	2	2	
20	Imipenem	10/09/2006	2	2.81	0.8		
21	Meropenem	05/10/2006	2	32.6	37.52		
22	Mero-Metro	03/10/2006	3	19.41	10.75	4.67	
23	Mero-Vanco	06/10/2006	1	45.2			
24	Imipenem	17/10/2006	1	8			
25	Mero-cefta	17/05/2006	1	5			
26	Cefta-genta-mero	22/06/2006	3	0.5	10	5	
27	Cefta-ampi-vanco	18/02/2006	2	10	2		
28	Cefta-vanco-mero	19/07/2006	3	<0.5	10	2	
29	Merop-Vanco	21/04/2006	1	10			
30	Mero-clinda-peni	08/08/2006	1	2			
31	Vanco-clinda-mero	02/05/2006	1	2			
32	Imip-Clinda	24/05/2006	1	10			
33	Vanco-cefta-metro	14/07/2006	1	5			
34	Imipenem	22/05/2006	1	2			
35	Metro-imipenem	17/09/2006	3	10	2	0.5	
36	Mero-vanco-cefta	18/05/2006	2	<0.5	2		
37	Mero-cefta-vanco	14/05/2006	3	2	5	10	
38	Mero-clinda	26/03/2006	2	10	8.3		
39	Mero-Metro	28/07/2006	2	2	10		
40	Imipenem-metro	08/08/2006	2	10	2		
41	Imipenem	20/07/2006	2	10	0.5		
42	Ceftazidima	23/06/2006	1	10			
43	Meropenem	05/11/2006	2	49.9	10		
44	Mero-clinda	08/11/2006	3	10	5	0.5	
45	Meropenem	18/02/2006	2	10	10		
46	Meropenem	02/03/2006	2	32	10		
47	Imipenem	07/04/2006	3	10	5	0.5	
48	Imipenem	08/04/2006	3	10	5	0.5	
49	Meropenem	04/06/2006	2	10	0.5		
50	Cefta-clinda	20/06/2006	3	23	10	5	
51	Meropenem	24/06/2006	4	45	10	5	0.5

No.	Sitio Foco Septico	Estatus del paciente		Cultivos	Operación o Reoperación?	
		Vivo	Finado		No	Si
1	Abdomen	1		Abdomen +		1
2	Abdomen-perforacion ciego	1		Abdomen +		1
3	Herida QX	1		HxQx +		1
4	No	1		No	1	
5	Abdomen	1		Abdomen +	1	
6	Abdomen-Bilis infectada	1		Abdomen +		1
7	Abdomen/Pulmón	1		Abdomen +		1
8	Higado-Abdomen	1		Abdomen +		1
9	MPD		1	Hemocult.+S.betaHem.		1
10	Abdomen/Pulmón	1		Hemocultivo +	1	
11	Abdomen	1		Abdomen +		1
12	Abdomen	1		Abdomen y bronquial +	1	
13	No	1		No	1	
14	Pulmón/Pleura		1	Pleura +	1	
15	Pulmón/Pleura	1		Bronquial +	1	
16	Pulmón/Pleura	1		Bronquial +	1	
17	Abdomen	1		Abdomen y bronquial +		1
18	No	1		No	1	
19	No		1	No	1	
20	Abdomen	1		Bilis +		1
21	Hueso	1		Mielocultivo +	1	
22	Abdomen	1		Abdomen y bronquial +		1
23	Abdomen	1		Abdomen +		1
24	Abdomen-pulmón	1		Abdomen y bronquial +		1
25	Abdomen		1	Abdomen +		1
26	Tejidos blandos facia		1	Tejido +		1
27	Herida Qx	1		HxQx +		1
28	Herida Qx		1	HxQx y bronquial +		1
29	Abdomen-Facia		1	Hemocultivo +		1
30	Tejidos blandos facia	1		Tejidos blandos +		1
31	Tejidos blandos facia		1	Hemo, orina y esputo +		1
32	Tejidos blandos facia		1	Tejidos blandos abdomen +		1
33	Higado (abscesos)	1		No		1
34	Pleura	1		Pleura y bronquial +		1
35	Abdomen	1		Abdomen +		1
36	Pulmón/Pleura		1	Pleura y bronquial +	1	
37	Abdomen		1	Abdomen +		1
38	Pleura/Pulmón		1	Pleura y bronquial +	1	
39	Abdomen		1	Abdomen +		1
40	Abdomen		1	Abdomen +		1
41	Periodontal/Tej.blandos	1		Tej. Blandos +	1	
42	Abdomen	1		Abdomen +		1
43	Abdomen		1	Abdomen +		1
44	Pleura/Pulmón	1		Pleura y bronquial +	1	
45	Abdomen	1		Abdomen +		1
46	Tejidos blandos facia	1		Tej. Blandos +		1
47	No	1		No	1	
48	No	1		No	1	
49	Abdomen		1	Abdomen +		1
50	Abdomen		1	Abdomen +		1
51	Abdomen	1		Abdomen y bronquial +		1

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

1. **Farreras, Rozman:** Medicina Interna, 13ª Edición y 3ª Edición CD-ROM. *Editorial Doyma S.A. y Mosby-Doyma Libros S.A.* 1996.
2. **Bone R. y cols:** Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992;20:864-874.
3. **Harrison y cols:** Principios de Medicina Interna, 15ª Edición. *Editorial McGraw-Hill/Interamericana, S.A. de C.V.* 2002;Vol.1,pág.:946-953.
4. **Bone R. y cols:** Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response systemic: What we do and what we do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med* 1996;24:163-172.
5. **Clec'h C. y cols:** Diagnostic and prognostic value of procalcitonina in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004;32:1166-1169.
6. **Becker K.L. y cols:** Calcitonin: Structure, molecular Biology, and Actions. *Principles of Bone Biology* 1996;34:471-494.
7. **Christ-Crain M. and Müller B.:** Procalcitonin in bacterial infections – hype, hope, more or less? *SWISS MED WKLY* 2005;135:451–460.
8. **García V. y cols:** Procalcitonina: Un Nuevo Marcador de Infección Bacteriana. *Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital Universitario Central de Asturias* 2002;1/1:1-4.
9. **Aikawa N. y cols:** Multicenter prospective study of procalcitonina as an indicator of sepsis. *J Infect Chemoter* 2005;11:152-159.

10. www.brahms.de

11. **Al-Nakeeb S. and Clermon G:** Procalcitonin testing has the potential to reduce unnecessary antibiotic use in patients with suspected lower respiratory tract infections. *Critical Care* 2005;9:1-2.

12. **Marik P.E:** Definition of sepsis: Not quit time to dump SIRS? *Critical Care* 2002;30:706-708.

13. **Papachristou G.I. and Whitcomb D.C.:** Predictors of severity and necrosis in acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin N Am* 2004;33:871-890.

14. **Viallon A. y cols:** Decrease in serum procalcitonina levels over time during treatment of acute bacterial meningitis. *Critical Care* 2005;9:344-350.

15. **Prat C. y cols:** Use of Quantitative and Semiquantitative Procalcitonin Measurements to Identify Children with Sepsis and Meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:136-138.

16. **Falcoz P-E. y cols:** Usefulness of procalcitonin in the early detection of infection after thoracic surgery. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2005;27:1074-1078.

17. **Shafiq N. y cols:** Estimating the Diagnosis Accuracy of Procalcitonin as a Marker of the Severity of Acute Pancreatitis: A Meta-Analytic Approach. *JOP. J Pancreas* 2005;6:231-237.

18. **Isasi M. y cols:** Mannan-Binding Lectin and Procalcitonin Measurement for Prediction of Postoperative Infection. *Crit Care*. 2005;9(5):483-489.

19. **Steinbach G. y cols:** Procalcitonin in patients with acute and chronic renal insufficiency. *Wien Klin Wochenschr* 2004;116/24:849-853.

20. **Mitaka Chieko:** Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clinica Chimica Acta* 2005;351:17-29.

21. **Meisner M. y cols:** Diagnosis of sepsis: The Role of Parameters of the Inflammatory Response. *MJS-NVIC* 2001;5:41-45.

22. **Lie D. y cols:** Procalcitonin Monitoring Helps Assess Sepsis, Prognosis in Surgical ICU. *Arch Surg* 2007;142:134-142.