



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Centro Médico Nacional Siglo XXI

**Ensayo clínico controlado aleatorizado del efecto de la citrulina  
sobre la evolución clínica y bioquímica en pacientes con sepsis**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

**LEONOR SERRANO CUEVAS**

Tutor de tesis:

M.C. EDUARDO ALMEIDA GUTIERREZ

Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, Noviembre 2020.



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.

## ÍNDICE

ÍNDICE		
	<b>CAPÍTULOS</b>	Pág.
I	RESUMEN.	4
II	MARCO TEÓRICO.	
	II.A. Epidemiología de la sepsis.	6
	II.B. Definición de sepsis.	6
	II.C. Patofisiología de la sepsis.	9
	II.D. Endotelio y sepsis.	10
	II.E. Biomarcadores en sepsis.	10
	II.F. Oxido nítrico y sepsis.	11
	II.G. Nutrición y sepsis.	13
	II.H. Inmunonutrición, aminoácidos y sepsis.	13
	II.I. Ciclo Arginina-Citrulina-Ornitina.	14
	II.J. Citrulina: Farmacocinética y farmacodinamia.	16
	II.K. Citrulina en pacientes críticos.	18
	II.L. Citrulina en sepsis.	18
	II.M. Escalas de severidad.	21
III.	JUSTIFICACIÓN.	24
IV	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.	25
V.	OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS.	26
VI.	HIPÓTESIS.	26
VII.	PACIENTES Y MÉTODOS.	27
VIII.	DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.	31
IX.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	37
X.	ASPECTOS ÉTICOS.	38
XI	RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.	40
XII	RESULTADOS	41

XIII	DISCUSIÓN	49
XIV	CONCLUSIONES	55
XV	CRONOGRAMA.	56
XVI	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
XVII	ANEXOS.	
	XVII.A. Carta de consentimiento informado.	62
	XVII.B. Algoritmo de nutrición enteral.	64
	XVII.C. Tabla de eventos adversos serios.	65
	XVII.D. Hoja de recolección.	66
	XVII.E. Escala de APACHE.	69
	XVII.F. Escala SOFA.	71
	XVII.G. Escala MODS.	72
	XVII.H. Escala SAPS III.	73

## RESUMEN

### ESTUDIO PILOTO:

**“Ensayo Clínico Controlado Aleatorizado del Efecto de la citrulina sobre la evolución clínica y bioquímica en pacientes con sepsis”.**

#### ANTECEDENTES:

Una causa frecuente de ingreso a las Unidades de Cuidados Intensivos es la sepsis, con una mortalidad de hasta 50%, en nuestro país cada 2.6 horas un mexicano fallece por esta causa, se han tratado de buscar alternativas a nivel mundial para evitar que esta patología evolucione hacia una disfunción orgánica múltiple e incluso la muerte. Dentro del manejo integral de los pacientes con sepsis la inmunonutrición en la última década ha despertado interés tanto en los investigadores básicos como clínicos, buscando evidencias para determinar si estos nutrientes ayudan a mejorar la inmunidad celular y humoral.

#### OBJETIVO GENERAL:

Determinar el efecto de la administración de dosis de citrulina sobre los datos clínicos y bioquímicos en los pacientes con sepsis.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

A través de un ensayo clínico controlado triple ciego, experimental, longitudinal, prospectivo, prolectivo y aleatorio por bloques balanceados, se incluyeron pacientes que ingresaron al Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI con diagnóstico de sepsis grave, según los lineamientos de la Segunda Conferencia Internacional de definiciones en sepsis.

El tamaño de la muestra se calculó con base al valor de la media reportada por Hicker y cols respecto a la glucosa. Dando una  $\alpha = 0.05$  y un poder de  $= 80\%$ , se determinó que el número de sujetos para participar en cada grupo era de 23. Sin embargo, este número se incrementó a 27 por una posible tasa de abandono o pérdidas del 20%. Se solicitó el consentimiento informado y de manera aleatoria se asignaron en dos grupos aquellos que recibieron suplemento con citrulina y los de placebo.

La administración de citrulina fue por vía oral o por sonda nasogástrica, la dosis utilizada fue de 10 gr de citrulina al día, durante siete días continuos, previo a la administración del fármaco se tomaron muestras sanguíneas como biometría hemática completa, pruebas de función hepática, química sanguínea, depuración de creatinina y los siguientes biomarcadores (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- $\alpha$ , NOx y microalbuminuria), se realizó una segunda muestra de algunos de ellos a las 24 horas y una tercera a los 7 días. Para determinar la gravedad del paciente se utilizaron escalas de severidad como APACHE II y SOFA.

## **RESULTADOS:**

Para el análisis estadístico se utilizaron medianas y rangos intercuartílicos. Se contrastaron las diferencias entre grupos, con prueba exacta de Fisher y para las variables cuantitativas se utilizó U de Mann Withney y Wilcoxon para comparar las variables continuas, se usó además la prueba de Friedman para muestras relacionadas. Se realizó análisis de supervivencia por grupo de tratamiento; Todas las pruebas estadísticas fueron probadas bajo un nivel crítico de 95 (alfa 0.05).

El grupo que recibió citrulina tuvo un mejor control glucémico al concluir el tratamiento respecto con el grupo placebo con una  $p=0.001$  y se evidenció que los AGEs también disminuyeron con una  $p=0.01$ , es el primer estudio donde se evidencia la disminución de este último metabolito, lo que abre las puertas para continuar con el estudio de este aminoácido.

El órgano blanco de la citrulina en el presente estudio fue el riñón, mejora los niveles de urea  $p=0.05$ , la depuración de creatinina  $p=0.001$ , el ACR con una  $p=0.0001$ , este índice se propone como una herramienta útil, barata, no invasiva, fácil de interpretar y que se puede realizar a la cabecera del paciente de manera casi inmediata, la lesión renal aguda fue menor en comparación con el grupo placebo con una  $p=0.02$ .

Los niveles de NO fueron más elevados en el grupo de citrulina con una  $p<0.0001$  similar a los modelos murinos lo que sugiere por el mecanismo de acción conocido puede mejorar la microcirculación endotelial. No hubo diferencias respecto a la mortalidad a 28 días.

## **CONCLUSIONES**

Para proponer a la citrulina como un inmunonutriente en pacientes con sepsis es necesario realizar más estudios, el órgano blanco que presentó mejoría durante el proceso infeccioso fue el riñón, este estudio abre la puerta para explorar la utilidad de este aminoácido en otras patologías.

## **II. MARCO TEÓRICO.**

### **II.A. EPIDEMIOLOGIA DE LA SEPSIS.**

La sepsis es la respuesta que tiene el huésped ante un agente infeccioso, que involucra potentes cascadas inflamatorias y moléculas proinflamatorias en la circulación, por lo tanto, clínicamente se manifiesta como un síndrome complejo que resulta de la respuesta innata del huésped ante la invasión de un agente patógeno (1).

Esta patología es una causa frecuente de ingreso a las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), es responsable de 65,000 ingresos anuales en los hospitales del Reino Unido, mientras que en los Estados Unidos se reporta cerca de 750,000 ingresos con una mortalidad que va del 28 al 50%. (2).

En el año 2005 se realizó en México un estudio epidemiológico que demostró que el 27% de los ingresos a la UCI fueron por diagnóstico de sepsis, con origen en abdomen y pulmón, la mortalidad reportada fue de 40 a 80% y se concluyó que cada 2.6 horas muere un mexicano por esta patología (3).

En la UCI del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional SXXI del IMSS, hay 730 egresos anuales, de los cuales 147 (20.13%) son por diagnósticos de sepsis, sepsis grave y choque séptico, los principales focos infecciosos se encuentran a nivel abdominal y pulmonar; la tasa global de mortalidad es del 13% y la sepsis es la primera causa de muerte en esta unidad.

### **II.B. DEFINICIÓN DE SEPSIS.**

Antes del año 1992 no se disponía de una terminología que unificara los procesos relacionados con la sepsis, por lo que fue necesario establecer criterios diagnósticos de esta patología, surge entonces la Primer Conferencia de Consenso que definió los términos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), sepsis, sepsis grave, choque séptico y disfunción o falla orgánica múltiple.

En el 2001 se realizó la Segunda Conferencia Internacional de Definiciones en Sepsis, bajo la dirección de la Sociedad Europea de Medicina Intensiva Crítica (ESICM), el Colegio Americano de Médicos de Tórax (ACCP), la Sociedad Americana de Tórax (ATS) y la Sociedad de Infecciones Quirúrgicas (SIS) en donde se unificaron los conceptos para definir a la sepsis con sus diversos estadios (4).

Basados en estos lineamientos internacionales, sabemos ahora que el *SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA* (SIRS), puede ser provocado por una variedad de condiciones infecciosas y no infecciosas, los signos de inflamación sistémica pueden ocurrir en pacientes con infección, pero también en aquellos que presentan quemaduras, pancreatitis y otros estados inflamatorios no infecciosos; se considera SIRS cuando el paciente presenta dos o más de los siguientes datos: leucocitosis  $>12,000$  cel/uL o leucopenia  $<4,000$ , bandas  $>10\%$ , hipertermia  $>38^{\circ}\text{C}$  o hipotermia  $<35^{\circ}\text{C}$ , hipocapnia  $\text{PaCO}_2 <32$ , frecuencia

respiratoria >20 respiraciones/min y/o frecuencia cardíaca > 90 latidos/min.

La *SEPSIS*, es definida como la presencia de una infección (probable o documentada) además de los criterios de SIRS y generalmente conlleva una mortalidad de 15% (5,6).

*SEPSIS GRAVE*, se define con los criterios de sepsis más la disfunción de un órgano inducida por la misma sepsis o la presencia de datos clínicos de hipoperfusión tisular; la hipotensión inducida por sepsis es definida como una disminución en la presión arterial sistólica (TAS) < 90 mmHg o en la presión arterial diastólica (TAD) <40 mmHg, o bien en la presión arterial media (TAM) < 70 mmHg, o menos de dos desviaciones estándar por debajo de lo normal para la edad en ausencia de otras causas de hipotensión; la hipoperfusión inducida por sepsis es definida como la hipotensión con elevación de lactato y oliguria inducidas por una infección; la mortalidad observada llega a ser de un 25 o 30% (2,4). Las infecciones por neumonía ocupan la primera causa de sepsis grave, seguida por las infecciones abdominales y urinarias.

El *CHOQUE SÉPTICO* es la sepsis que induce hipotensión refractaria después de una adecuada reanimación con líquidos o hiperlactatemia, generalmente la mortalidad puede elevarse hasta 40-70%. El *CHOQUE SÉPTICO REFRACTARIO* es definido como la incapacidad de mantener una TAM >70 mmHg o >80 mmHg en aquellos pacientes hipertensos, pese a una adecuada reanimación hídrica y aun con el apoyo de aminas vasopresoras como dopamina >15 ug/kg/min, noradrenalina >0.25 ug/kg/min o epinefrina >0.25 ug/kg/min (4,5).

Uno de los desenlaces fatales en la sepsis es la *DISFUNCIÓN ORGÁNICA MÚLTIPLE (DOM)* (falla de dos o más órganos, evaluados por consenso internacional por las escalas SOFA y MODS (5). En esta complicación de la sepsis, el intestino juega un papel preponderante en la patogénesis, ya que es considerado hoy en día como un órgano inmunológico activo, además de la presencia de infección e inflamación sistémica a este nivel. La sepsis inducida por la pérdida de la integridad de la mucosa intestinal por mecanismos de lesión como la isquemia-reperfusión, necrosis celular y/o apoptosis, así como la interrupción de la microcirculación, genera la presencia de íleo que induce sobrecrecimiento bacteriano provocando la translocación de las mismas y los productos bacterianos viables se diseminan por el tejido linfático que se encuentra asociado al intestino, siguiendo el drenaje anatómico hacia los ganglios linfáticos mesentéricos, lo que ocasiona una respuesta inflamatoria y como consecuencia de ello culmina con la disfunción orgánica múltiple ((7).

En la DOM el tejido se encuentra con hipoperfusión e hipoxia secundaria a la formación de trombos, hay deformidad de los glóbulos rojos que propicia una mala distribución de la hemoglobina, edema tisular causado por un aumento de la permeabilidad capilar, disminución de la presión de perfusión, a estos cambios vasculares se le conoce como vasoplejía y se encuentran relacionados estrechamente con el óxido nítrico (NO). Las células de la micro y macroeconomía se vuelven incapaces de utilizar correctamente el oxígeno disponible debido a que el óxido nítrico inducido (iNO) deteriora la respiración mitocondrial, daña al tejido por liberación de enzimas lisosomales y radicales de superóxido libres. En los pacientes críticamente enfermos, la disfunción intestinal es frecuente y se encuentra asociada a un pobre diagnóstico.



En las Tablas 1 y 2, se resumen los criterios diagnósticos de sepsis y de sepsis grave de acuerdo a los consensos internacionales.

**Tabla 1. Criterios diagnósticos de Sepsis. (5)**

<p><b>Definición de Sepsis.</b>  <b>Infección, documentada o sospechada y alguno de los siguientes:</b></p>
<p><b>Variables generales</b>          Fiebre (&gt; 38.3°C)          Hipotermia (&lt; 36°C)          Frecuencia cardiaca &gt; 90/min o más de dos desviaciones estándar arriba de lo normal para la edad          Taquipnea          Alteraciones del estado mental          Edema significativo o balance positivo de líquidos (&gt; 20 mL/kg em 24hrs)          Hiperglucemia (glucosa en plasma &gt; 140 mg/dl ó 7.7 mmol/L) en ausencia de diabetes.</p>
<p><b>Variables inflamatorias.</b>          Leucocitosis &gt;12,000 ul          Leucopenia &lt;4,000 ul          Leucocitos normales pero con más del 10% de formas inmaduras (bandas)          Proteína C reactiva mayor a dos desviaciones estándar del valor normal          Procalcitonina plasmática mayor a dos desviaciones estándar del valor normal.</p>
<p><b>Variables hemodinámicas.</b>          Hipotensión arterial (TAS &lt; 90 mmHg, TAD &lt; 40 mmHg, TAM &lt; 70 mmHg o una disminución de al menos dos desviaciones estándar debajo de lo normal para la edad.</p>
<p><b>Variables de disfunción orgánica.</b>          Hipoxemia arterial (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> &lt;300)          Oliguria aguda (gasto urinario &lt;0.5 mL/k/hr por lo menos 2 hrs después de una reanimación adecuada)          Incremento de creatinina &gt;0.5 mg/dL o 44.2 umol/L          Anormalidades de la coagulación (INR &gt;1.5 o un TTP &gt;60 s)          Íleo (ausencia de sonidos intestinales)          Trombocitopenia (conteo plaquetario &lt;100,000 uL)          Hiperbilirrubinemia (bilirrubina total en plasma &gt;4 mg/dL o 70 umol/L)</p>
<p><b>Variables de perfusión tisular.</b>          Hiperlactatemia (&gt;1 mmol/L)          Disminución del llenado capilar</p>

**Tabla 2. Criterios diagnósticos de Sepsis Grave. (5)**

<b>Definición de Sepsis Grave:</b> <b>Hipoperfusión tisular inducida por sepsis con disfunción de un órgano (uno de los siguientes que se piense que es debido a la infección)</b>
Hipotensión inducida por sepsis.
Niveles de lactato por arriba de los límites normales del laboratorio.
Gasto urinario >0.5 mL/kg por más de dos horas, después de una adecuada reanimación con líquidos.
Lesión pulmonar aguda con una PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <250 en ausencia de una neumonía como fuente de infección.
Lesión pulmonar aguda con una PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> <200 en presencia de una neumonía como fuente de infección.
Creatinina >2.0 mg/dL (176.8 µmol/L)
Bilirrubina >2 mg/dL (34.2 µmol/L)
Conteo plaquetario <100,000 uL
Coagulopatía (INR >1.5)

### **I.L.C. PATOFISIOLOGÍA DE LA SEPSIS.**

Durante el proceso infeccioso se pierde el equilibrio entre la respuesta del huésped y la inmunidad innata lo que resulta en anomalías en la coagulación, en los mecanismos de inmunosupresión y antiinflamatorios.

La *RESPUESTA ESPECÍFICA DEL HUÉSPED* en cualquier paciente depende del patógeno causal (carga y virulencia) y del huésped (características genéticas y enfermedades coexistentes), con respuestas diferentes a nivel local, regional y sistémica, de acuerdo a la respuesta del huésped será el curso clínico. Ante una agresión hay una respuesta proinflamatoria (dirigida a la eliminación de los patógenos invasores), se cree que esta es la responsable del daño al tejido colateral en la sepsis grave, pero también se encuentra una respuesta antiinflamatoria, importante para limitar la lesión local y sistémica.

Por otro lado, respecto a la *INMUNIDAD INNATA*, sabemos que los patógenos activan a las células inmunes a través de una interacción con cuatro clases de receptores: a) receptores de células toll, b) receptores de lectina tipo C, c) receptores como el del gen inducible de ácido retinoico-1 y d) receptores de oligomerización y unión a nucleótidos de dominio; este último grupo actúa en complejos proteicos llamados inflamosomas. La función de este conjunto de mecanismos radica en reconocer estructuras de los patógenos iniciando la inmunidad innata, y también detectan las alarminas (moléculas endógenas liberadas de las células dañadas), que son expresadas también en lesiones estériles, tales como en el trauma (8).

Por su parte, el sistema inmunológico humoral tiene *MECANISMOS INFLAMATORIOS Y DE INMUNOSUPRESIÓN* por vías neuronales y celulares, estos mecanismos disminuyen los efectos potencialmente nocivos de la respuesta proinflamatoria de tal forma que los fagocitos pueden

cambiar al fenotipo antiinflamatorio promoviendo la reparación, regulación de las células T y reducción de la inflamación.

Frecuentemente, la sepsis grave se asocia con *ANORMALIDADES DE LA COAGULACIÓN*, y una de las complicaciones más severas es la coagulación intravascular diseminada. El exceso de los depósitos de fibrina es impulsado por la coagulación a través de la acción del factor tisular que es una glicoproteína transmembrana expresada por varios tipos celulares; los mecanismos anticoagulantes se encuentran deteriorados, incluyendo el sistema de la proteína C y la antitrombina, por lo tanto, la eliminación de fibrina se ve comprometida debido a esta disfunción del sistema fibrinolítico. Los receptores activados por proteasas (PAR) forman un vínculo entre la coagulación y la inflamación, de los cuatro subtipos identificados, la PAR1 está implicada en la sepsis, tiene efectos citoprotectores pero cuando se activa por dosis altas de trombina ejerce efectos adversos en el endotelio(8).

#### **II.D. ENDOTELIO Y SEPSIS.**

En los últimos años, se ha demostrado que el daño endotelial tiene un papel importante en la fisiopatología de la sepsis. El endotelio se compone de una sola capa de células que recubre la superficie interior de todos los vasos sanguíneos, representa alrededor de  $10^{13}$  células, con un peso de 1,5 kg y cubre alrededor de 4,000-7,000 m<sup>2</sup>. Las células endoteliales (Ces) se encuentran en la interfaz de la sangre circulante y la pared del vaso, están unidas a una membrana basal rica en colágeno y glicoproteínas, formando un complejo entre la circulación y la matriz vascular procoagulante (9,10).

Cuando se produce una lesión vascular, de forma inmediata se produce vasoconstricción, que reduce el flujo sanguíneo local e inicia los mecanismos de reparación, lo que estimula la adhesión plaquetaria hacia la pared vascular; el endotelio destruido, queda expuesto y en la matriz subyacente (rica en colágeno) las plaquetas se conectan a través de glicoproteínas de membrana. La glicoproteína Ia (GPIa) interactúa con la colágena de una manera rápida y reversible, mientras que la glicoproteína Ib (GPIb)-IX-V se une al factor de Von Willebrand (9), lo que desencadena el mal funcionamiento sistémico, del endotelio. El endotelio también participa activamente en la defensa del organismo contra los patógenos mediante la concentración de los leucocitos a los sitios infectados, la liberación de mediadores de la inflamación y otros mecanismos, por lo tanto, la activación endotelial en sepsis está asociada con cambios en el balance hemostático con el tránsito de leucocitos, permeabilidad vascular, inflamación y flujo microcirculatorio. Esta respuesta adaptativa aumenta durante la sepsis, lo que origina daño a los tejidos, proceso que se conoce como disfunción endotelial (10).

#### **II.E. BIOMARCADORES EN SEPSIS.**

El estudio de la sepsis en los modelos murinos a quienes se les provoca sepsis a través de la inyección de lipopolisacáridos (LPS) ha sido fundamental para conocer los cambios morfológicos y la respuesta inflamatoria en el endotelio.

La sepsis provoca un desprendimiento de la membrana basal de las células endoteliales (denudación capilar) que ocasiona edema subendotelial, las lesiones celulares endoteliales incluyen la vacuolización nuclear y la fragmentación citoplasmática (11,12). El tiempo de

inicio varía desde unos minutos hasta seis horas después de la inyección de LPS, los mediadores inflamatorios son liberados por los leucocitos entre las que se encuentran los siguientes: TNF, IL-1, IL- 6 IL- 8, radicales libres de oxígeno, aumentan las Ces apoptóticas que expresan moléculas de adhesión conocidas como ICAM-1 y VCAM, se inicia el reclutamiento de leucocitos, al tener una barrera endotelial débil se favorece el paso de las células y mediadores inflamatorios que aumentan la permeabilidad vascular con extravasación de albúmina dentro de las primeras seis horas de la lesión y provocan alteraciones en el tono vasomotor y por consecuencia alteraciones hemodinámicas (13).

La excreción de la microalbuminuria en la sepsis aumenta, por la elevada permeabilidad del endotelial renal, es un marcador fácil de medir, refleja el daño micro y macrovascular. En las primeras seis horas de iniciada la sepsis hay alteraciones significativas del glucocálix endotelial, esto explica el riesgo de desarrollar falla orgánica, después de 7 a 15 horas, se magnifica éste problema y se evidencian las alteraciones en la arquitectura glomerular (14). Por esta razón se ha propuesto a la microalbuminuria como un biomarcador en sepsis, se ha asociado su valor predictivo en la morbilidad intrahospitalaria de pacientes con sepsis, la excreción urinaria de albúmina se asocia a disfunción endotelial e inflamación dentro de los primeros tres días (15).

Además de la IL-6 un marcador de inflamación prototipo, existen otros biomarcadores de las células endoteliales en la sepsis: son la molécula de adhesión celular vascular soluble endotelial (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular soluble (ICAM-1) que regulan el tráfico de leucocitos, la E-selectina soluble (SE-selectina), el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) cuya función es regular el proceso trombosis-fibrinólisis y la tirosina quinasa soluble Fms 1(sFlt-1) que se encarga de la señalización; , todas estas moléculas se han asociado con la gravedad de la sepsis, disfunción orgánica y muerte hospitalaria en sujetos con sepsis. La sFlt-1 se asocia significativamente con la gravedad de la sepsis, disfunción de órganos, es altamente predictiva para la mortalidad en comparación con los otros marcadores como la IL-6 y el lactato (16).

## **II.F. ÓXIDO NÍTRICO Y SEPSIS.**

Dentro de la fisiopatología del daño endotelial en la sepsis, el NO (óxido nítrico) regula un número de procesos importantes, incluyendo el tono vascular, agregación plaquetaria, adhesión leucocitaria y consumo de oxígeno mitocondrial; es importante señalar que para la formación de óxido nítrico se encuentra involucrada la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) misma que comprende tres isoenzimas que se activan principalmente por citocinas proinflamatorias y producidas por células como los macrófagos. (17,18,19).

NO neuronal	→	(nNOS, NOS 1),	} NOS constitutivas (cNOS)
NO endotelial	→	(eNOS, NOS 3) y	
NO inducible	→	(iNOS, NOS 2)	

Las dos primeras son las isoenzimas comúnmente referidas como NOS constitutivas (cNOS) que son calcio-dependientes. La diferencia entre cNOS e iNOS es que la activación de cNOS depende del sistema de calcio-calmodulina, dura poco tiempo y produce cantidades pequeñas de NO, mientras que la activación de iNOS dura más tiempo y es la causante de la mayor

cantidad de NO.

La acción del NO se realiza mediante la modulación de la producción de cGMP que conduce a la reducción de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y provoca la relajación del músculo liso vascular y *vasodilatación*, el papel del NO en la regulación de la presión arterial y el flujo sanguíneo de órganos es indispensable.

Además de la regulación del tono vascular, el NO inhibe la adhesión de plaquetas y leucocitos de la sangre sobre el endotelio, así como la producción de aniones superóxido. El factor más importante que causa la vasodilatación independientemente del gasto cardíaco, es la sobreproducción de iNO, que es muy resistente a las catecolaminas exógenas, la causa de esta sobreproducción de NO es la inducción de la enzima iNOS por endotoxinas y otros mediadores de inflamación (IL-1, IL-2, IL-6, TNF, INF- $\gamma$  entre otros). La inducción de la iNOS perdura varios días después del primer estímulo, el hecho de la sobreproducción de NO secundaria a la inducción de iNOS y no de eNOS explica en parte, la falta de respuesta a la administración de noradrenalina (19).

La producción interrumpida de NO en el curso de la sepsis es un mecanismo complejo y evolutivo, para lo cual se divide en dos fases:

76) *NITROSOPENIA*: primera etapa, caracterizada por la disminución de la producción de NO a partir de la eNOS. Los mecanismos subyacentes a este efecto son diversos, desde cambios en los receptores de superficie para la transducción de señal alterada, hasta alteraciones cuantitativas o cualitativas de la eNOS. In vitro, la estimulación las Ces con TNF- $\alpha$  y/o LPS provocan una disminución en la expresión de RNAm del eNOS. En modelos murinos, la inducción de choque séptico en la fase temprana resultó por la pérdida de la eNOS endotelial, el equilibrio homeostático endotelial por lo tanto se inclina hacia la vasoconstricción, que afecta a las arteriolas próximas de primer orden y segundo de ciertos órganos, como el tracto digestivo.

B) *AUMENTO DE PRODUCCIÓN DE NO*: es la segunda etapa y se caracteriza por un aumento en la producción de NO a través de la iNOS; esta enzima inducible produce concentraciones nano-molares de NO (1000 veces más de lo que se produce por la eNOS), que origina vasodilatación microvascular difusa y lleva a la hipotensión arterial. Este y otros efectos de la sobreproducción de NO (como la producción de peroxinitrito, un potente agente oxidativo que resulta de la interacción del NO con el anión superóxido) son parte de la fisiopatología del choque séptico.

Durante la sepsis severa, se producen grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como el superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), los neutrófilos son la principal fuente de ROS, pero también las Ces las sintetizan en respuesta a agentes oxidantes o citocinas, las ROS se acumulan en las EC, en forma de peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) que resultan tóxicos para las proteínas y el DNA, ocasionando daño celular endotelial (12), y disminuyen la disponibilidad de NO, así como también inhiben el eNOS y afectan el tono vascular, la adhesión plaquetaria y la permeabilidad vascular, todos éstos mecanismos inducen la oclusión vascular y exacerban la hipoperfusión orgánica. Se ha demostrado que las ROS también activan el factor nuclear-JB (NF-JB), un importante factor de transcripción

de genes implicados en la inflamación (20).

En el terreno clínico y bajo la luz de éste conocimiento molecular, se ha estudiado un bloqueador no selectivo de NOS (L-NAME, molécula sintética, de naturaleza diferente a los aminoácidos), Villalpando y colaboradores, realizaron un estudio Fase III asignando de forma aleatoria ésta molécula o placebo a 797 sujetos con sepsis grave, sin embargo fue interrumpido prematuramente porque a pesar de una mejoría en los parámetros hemodinámicos, la administración de L-NAME se acompañó de un aumento en la mortalidad dando pauta a pensar que el mecanismo responsable de la insuficiencia circulatoria en la sepsis es la superproducción de iNOS. Por lo tanto, las nuevas líneas de investigación hoy en día se dirigen hacia la búsqueda de la homeostasis de endotelio y el NO (17).

## **II.G. NUTRICIÓN Y SEPSIS.**

Por otro lado, y como parte del manejo del paciente séptico se ha propuesto el soporte nutricional y metabólico tras la reanimación temprana, con el objetivo de evitar complicaciones secundarias como la sobreinfección y el fracaso multiorgánico, siempre que el paciente requiera nutrición y el tracto gastrointestinal este íntegro ésta será de elección sobre la parenteral, a pesar de que en pacientes con choque séptico la perfusión esplácnica esta comprometida, la incidencia de isquemia intestinal asociada a la nutrición enteral es baja (21,22).

Para determinar cuando un paciente se le puede dar nutrientes por vía enteral, se hace referencia a las Guías de nutrición del grupo de trabajo de problemas abdominales de la Sociedad Europea de Medicina en Cuidados Críticos (ESICM) (23).

## **II.H. INMUNONUTRICIÓN, AMINOÁCIDOS Y SEPSIS.**

Se ha propuesto la inmunonutrición a través de farmaconutrientes que son un conjunto de sustratos como los aminoácidos (glutamina y arginina), ácidos grasos omega 3, algunos oligoelementos y vitaminas, que además de su efecto nutricional intrínseco, estimulan a los mediadores que favorecen la inmunidad, inhiben los factores proinflamatorios y atenúan la respuesta frente a una agresión (24).

Heyland y colaboradores comentan que estas dietas enriquecidas pueden asociarse con mayor mortalidad mientras que Montejo y col. Concluyen que puede ser benéficas; dada la inconsistencia Marik y Zaloga a través de un meta-análisis concluyen que la inmunonutrición tiene un efecto benéfico que se traduce en una reducción en el riesgo de infecciones secundarias, mortalidad, días de estancia en UCI con formulas enriquecidas con aceite de pescado (24,25,26).

La arginina se ha asociado a efectos benéficos, tales como la génesis de óxido nítrico (NO), aumento de la capacidad antibacteriana innata, neurotransmisor intestinal y regulador de la microcirculación, aumenta la producción de ornitina que favorece el crecimiento y diferenciación celular, modula las señales celulares a partir de su metabolito la agmatina, en la sepsis este aminoácido esta disminuido (26,27).

## **II.I. CICLO ARGININA – CITRULINA - ORNITINA**

La **arginina** (ARG) es un aminoácido semi-esencial sintetizado principalmente de forma endógena en el túbulo proximal renal por conversión de citrulina (CIT) a arginina, bajo circunstancias normales contribuye aproximadamente entre 10% a 15% de la producción de arginina en todo el cuerpo. Posterior a la administración oral, la L-arginina es eliminada por las bacterias y las arginasas que se encuentran en el intestino y el hígado respectivamente.

La **citrulina** es un aminoácido no proteico producido por el metabolismo de la glutamina intestinal y cobra relevancia dado que es el precursor para la síntesis de arginina de novo (28). Un punto importante es que la L-citrulina no está sujeta a eliminación pre-sistémica, sino que la L-citrulina se convierte a L-arginina por la argininosuccinato-sintasa y por la argininosuccinato-liasa, por lo tanto, sirve como un precursor de la L-arginina (29,30,31).

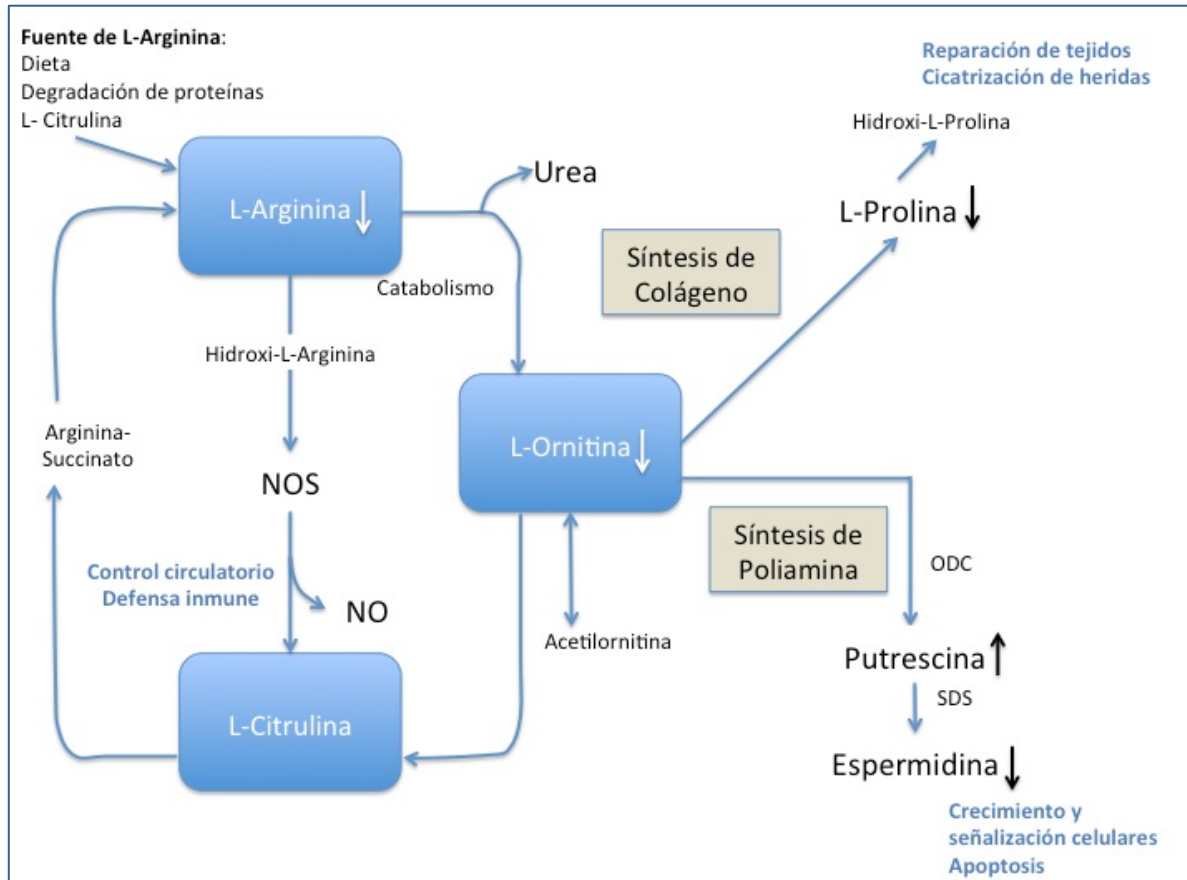
La L-arginina (Arg) sigue varias rutas metabólicas, entre ellas, las más estudiadas son:

1. Transformación en guanidinoacetato y creatina.
2. Oxidación a L-citrulina y a NO por la NOS endotelial (su sustrato principal).

La administración aguda o crónica de arginina aumenta la producción de óxido nítrico endotelial y mejora la función del endotelio, disminuyendo el riesgo de aterotrombosis (29).

El NO es producido a partir del aminoácido L-arginina por la acción de la enzima óxido nítrico-sintasa endotelial (eNOS), misma que se activa por el aumento del calcio intracelular y la fosforilación. Los agentes capaces de estimular la eNOS a través de receptores específicos incluyen: ADP, bradiquinina, sustancia P y los agonistas muscarínicos, además de fuerzas físicas (tensión de cizallamiento y la deformación por tracción pulsátil) (32). Véase la Figura 1.

**Figura 1.** Esquema del metabolismo de la arginina y productos relacionados. Visión general simplificada que presenta la vía L-arginina, incluyendo metabolitos principales, sus vías y funciones relacionadas.



NO (óxido nítrico), NOS (óxido nítrico sintasa), ODC (ornitina descarboxilasa), SDS (espermidina sintasa) (32).

La evidencia de la utilidad de la arginina en pacientes con sepsis aun se encuentra en estudio; existen estudios presentados en congresos internacionales, donde se probó el suplemento con arginina intravenosa, y un punto importante es que no se asocia a efectos adversos.

Por otro lado, Lorente y col, administraron un bolo de 200 mg/kg de L-arginina en siete pacientes con choque séptico, se apreciaron cambios inmediatos hemodinámicos por vasodilatación pulmonar y sistémica, pero fueron transitorios, sin asociarse a eventos adversos como hipotensión y/o choque (33).

Dado que no existe evidencia de un efecto benéfico de la arginina en pacientes con sepsis, la citrulina resulta ser una molécula prometedora por las siguientes propiedades que se describen a continuación.



## II.J. CITRULINA: FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA.

En los enterocitos la glutamina es transformada a citrulina, por la condensación de ornitina con carbamil fosfato (reacción catalizada por la ornitina carbamil – transferasa), la conversión a arginina produce citrulina y óxido nítrico mediante la enzima NOS, esta vía es la que produce la mayor cantidad de óxido nítrico endotelial (34). Se ha demostrado que la arginina contribuye en un 10% para la síntesis del flujo circulante de citrulina mientras que el 90% restante proviene de la glutamina. La citrulina producida por el intestino se libera como tal en el torrente sanguíneo, donde el 83 % de ésta se dirige al riñón y se transforma en arginina por la acción de la arginosuccinato-sintasa (ASS) y la arginosuccinato-liasas (ASL) en las células de los túbulos proximales; la producción de arginina *de novo* en el cuerpo proviene de la citrulina en un 60% mientras que el 5 al 15% se produce por el aporte dietético (28). La glutamina es el principal precursor de la citrulina, diferentes grupos de investigadores, de forma consistente han demostrado que la suplementación oral con glutamina enteral aumenta la concentración de citrulina plasmática.

**Tabla 3. Farmacocinética de la Citrulina. (34)**

<u>ESTUDIO</u>	<u>PACIENTES</u>	<u>DOSIS</u>	<u>CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA</u>	<u>REFERENCIA</u>
<b>Estudios de farmacocinética después de la ingesta de sandía</b>	6 adultos sanos	3,3 kg de peso seco del fruto de sandía madura	Cit: aumento de 22 umol / L a 593 umol / L (rango 386-1069) 1 h después de la ingestión. - Arg: aumento de 65 umol / L a 199 umol / l (rango 128-251) 2 h después de la ingestión	45
<b>Estudios de farmacocinética después de la ingesta de sandía</b>	23 adultos sanos	780 g (es decir, 1 g Cit), 1,560 g (es decir, 2 g Cit) de jugo sandía durante 3 semanas	Baja ingesta de jugo de sandía: Aumento del 12% en Arg plasma - Alta ingestión de jugo de sandía: Aumento del 22% en Arg plasma, aumento del 18% en Orn plasma.	35
<b>Estudio ciego simple cruzado</b>	8 adultos sanos	2, 5, 10 o 15 g de Cit	Después de la ingestión de 10 g de Cit - Cit $T_{max}=0,72 \pm 0,08$ h, la $C_{max} = 2,756 \pm 70$ umol / l -Arg $T_{max}=1,67 \pm 0,05$ h, $C_{max} = 280 \pm 1043$ umol / l	36
<b>Estudio aleatorizado</b>	10 adultos sanos	0.18 g/kg/d	- Cit: aumento de $448 \pm 92\%$ (a partir de $39 \pm 4$ a $225 \pm 44$ ) - Arg: aumento de $92 \pm 57\%$ (de $134 \pm 33$ - $247 \pm 62$ ) - Aumento de la orina y RBC Cit - No hay cambios en Arg urinaria ni plasmática de urea, urea urinaria balance de nitrógeno tanto aumento de la excreción de nitrógeno	28
<b>Estudio doble ciego aleatorizado cruzado placebo controlado</b>	20 adultos sanos	Cit: 0,75, 1,5 y 3 g dos veces al día Arg: liberación inmediata (IR) 1 g tres veces al día, liberación sostenida (SR) 1,6 veces al día durante 1 semana	Después de la carga de 3 g Cit - Cit : $T_{max}=$ de $0,7 \pm 0,1$ h, la $C_{max} = 846 \pm 45$ mmoles / l - Arg : $T_{max} = 1,4 \pm 0,1$ H, $C_{max} = 149 \pm 42$ mmol / l	30
<b>Estudio aleatorizado</b>	40 niños donde se realizó cirugía cardíaca	Cit g/m2/dose 1,9 x 5 La dosis total de 9,5	12h postoperatoria	39

<b>placebo controlado</b>	para corrección de defectos congénitos	g / m <sup>2</sup>	Cit: 37 (18-83) frente a 20 + (15 a 29) (placebo) Arg: 36 ±24 frente a 23 ± 13 57 y 85% de aumento en los niveles plasmáticos medios de Arg y Cit, respectivamente	
<b>Estudio clínico piloto fase II</b>	5 pacientes con enfermedad de células falciformes	0,09 a 0,13 g / kg dos veces al día durante 4 semanas	Aumento del 65% (a partir de 77 ± 9,1 a 127 ± 18) de Arg en plasma.	38

La citrulina se reconoce generalmente como sustancia segura para uso enteral o parenteral; en contraste con la arginina u ornitina, que inducen efectos secundarios gastrointestinales a dosis altas (>10 gramos), la citrulina es bien tolerada. La mayoría de los estudios han probado a la citrulina como un suplemento que puede sintetizar arginina *de novo* o como un precursor de NO (28,30).

Existen pocos estudios de farmacocinética en relación a este aminoácido intermedio, la dosis de administración oral de citrulina es variable; Collins y col, utilizaron 7 gr/día, mientras que Moinard y su grupo evaluaron diferentes concentraciones de citrulina, desde 2.5gr hasta 15 gr y concluyen que las dosis dentro de este rango son seguras y sin efectos colaterales. Kameda y col. Reportaron que la ingesta transitoria de citrulina de 3.2 gr/día, se asocia con disminución en el intervalo QT, mejorando así el flujo miocárdico y sin reporte de arritmias o eventos cardiovasculares mayores. La citrulina se ha utilizado también en enfermedad de células falciformes, en prehipertensión, en pacientes con insuficiencia cardiaca crónica para mejorar la fracción de expulsión, asimismo en mujeres con preeclampsia; todos los estudios con resultados alentadores, pero aún no definitivos (35,36,37,38)

La citrulina tiene efecto vasodilatador leve y la dosis que se ha usado para este fin es de 0.09 a 0.13 g/kg dos veces al día por cuatro semanas, con mejoría en la función cardiaca durante el ejercicio, aumento de sensación de bienestar, disminución del número de leucocitos totales y del recuento de neutrófilos (27).

Este inmunonutriente se ha usado en población infantil: en niños sometidos a cirugía para corrección cardiopatías congénitas, el suplemento peri operatorio con citrulina oral demostró aumento en las concentraciones de citrulina y arginina plasmática en comparación con el placebo, con efecto neto en la producción de NO, con un menor riesgo de hipertensión pulmonar postoperatoria (a dosis de 1.9 g/m<sup>2</sup> con un total de 9.5 g/m<sup>2</sup>), el perfil de seguridad no mostró efectos o reacciones adversas (39).

Todos los ensayos han usado citrulina por vía oral, el único estudio donde se ha administrado de forma intravenosa es el realizado por Barr y colaboradores, quienes la usaron en niños sometidos a cirugía de corazón por defectos congénitos como una terapia en el manejo de la hipertensión pulmonar, la dosis de 150 mg/kg fue administrada antes de la cirugía y posteriormente se continuó en infusión de 9 mg/kg/h por 48 horas, siendo bien tolerado, seguro y con desenlaces a favor de la citrulina intravenosa(40).

Estos antecedentes sugieren que la citrulina es segura para su uso vía oral en diferentes poblaciones (pacientes con sepsis, mujeres embarazadas y niños). Las Recomendaciones Para el Soporte Nutricional y Metabólico Especializado del Paciente Crítico de España

sugieren que la citrulina debe ser evaluada con ensayos clínicos ya que es un complemento terapéutico del tipo inmunonutriente que promete buenos resultados (41).

### **II.K. CITRULINA EN PACIENTES CRÍTICOS.**

Se ha demostrado que las concentraciones de citrulina en pacientes críticamente enfermos tienen un valor pronóstico, se ha reconocido a la citrulina como un marcador funcional de la masa del enterocito, Piton G y col. Observaron que la citrulina disminuye de 18.8 umol/L a 13.5 umol/L ( $-6.3 \pm 11.9$  umol/L,  $p < 0.05$ ) en el primer día de estancia en la UCI, demuestran que niveles  $\leq 10$  umol/L pueden indicar disfunción intestinal en pacientes críticos, que se refleja con aumento en la presión intraabdominal, altos niveles de concentración de la proteína C reactiva y mayor uso de antibióticos (42,43).

Se ha demostrado también que una concentración de citrulina  $\leq 12.2$  umol/L es un factor independiente de muerte a los 28 días (Odds ratio 5.17, IC 1.59-16.86), aunado a un SOFA  $> 12$  (Odds ratio 4.38, IC 1.48-13.03).

La disfunción de los enterocitos se asocia con niveles bajos de citrulina plasmática, secundaria a la reducción de la masa del enterocito y niveles aumentados de concentraciones plasmáticas de la proteína ligadora de ácidos grasos intestinales (I-FABP), además que el daño de los enterocitos es significativamente más frecuente en los pacientes que tienen choque que en aquellos que no lo tienen (44).

Algunas teorías del daño que existen en los enterocitos de los pacientes críticamente enfermos son:

- ❖ Presentan isquemia intestinal no oclusiva (NOMI) que representa el 20% de las causas de isquemia mesentérica intestinal; los pacientes críticos tienen una alta posibilidad de presentar choque por NOMI, misma que representa la principal causa de isquemia intestinal en estos pacientes (43).
- ❖ Hipoperfusión a nivel intestinal asociada a la NOMI e isquemia en otros órganos como el hígado y el riñón
- ❖ La alta propensión de la mucosa intestinal a la isquemia, lleva a una necrosis temprana de las vellosidades; esta isquemia hipotéticamente induce disminución de la masa del enterocito lo que origina disminución en las concentraciones de citrulina.

### **II.L. CITRULINA EN SEPSIS**

Luiking y col., demuestran que los pacientes con sepsis tienen niveles bajos de citrulina y la síntesis *de novo* de arginina está disminuida; por otro lado, Kao y col. Prueban que los pacientes sépticos tienen una alteración en el paso del metabolismo de la glutamina para ser transformada a citrulina, y aunque la captación esplácnica de glutamina es adecuada, hay

disminución en la producción de citrulina, lo que sugiere que: 1) hay un defecto en uno o más pasos de la vía metabólica de conversión de glutamina a citrulina 2) existe disminución de la captación de glutamina por el enterocito, pero un aumento de captación de glutamina por el hígado, y / o 3) la desviación de la glutamina a otras rutas metabólicas. (45,46,47)

La causa más frecuente de infección nosocomial puede ser secundaria a la translocación bacteriana nosocomial, dado los bajos niveles plasmáticos de citrulina. En primer lugar, el hecho de que la alimentación enteral no se proporcione de forma adecuada en estos pacientes que *per se* tienen bajas concentraciones plasmáticas de citrulina pueden hacer manifiesta una barrera intestinal alterada (asociada con el ayuno o retraso en la alimentación enteral de los pacientes más inestables). En segundo lugar, la reducida biodisponibilidad de la citrulina puede contribuir a una mayor mortalidad. La citrulina se considera una forma de arginina enmascarada, porque contrariamente a la arginina no es absorbido por el hígado o en la circulación mesentérica, ya que no se destruye por las arginasas y se transforma nuevamente en arginina a nivel renal para estar disponible (44,48). Este mecanismo es relevante y justifica su uso en pacientes con sepsis donde hay disminución del aporte de arginina.

Hol y col., encontraron niveles plasmáticos bajos de citrulina en pacientes sometidos a una cirugía mayor (laparotomía) comparado con sujetos que tuvieron una cirugía menor (vulvectomía), este estudio mostró una correlación entre las concentraciones de citrulina y ornitina, con los metabolitos de óxido nítrico, ambos bajos en los sujetos estudiados (49).

En los estados agudos la síntesis de arginina endógena no es suficiente, lo que la hace esencial en estas circunstancias, esta disminución en los niveles plasmáticos de arginina se podría explicar por el aumento de catecolaminas inducida por el estrés preoperatorio, en condiciones agudas sabemos que las catecolaminas estimulan la actividad de la arginasa (tanto *in vitro* como *in vivo*) (49).

Dado que la arginina es un aminoácido disminuido en la sepsis, se considera necesario recuperar sus valores normales, se estudia la posibilidad de que al administrar citrulina se restauren los valores de arginina, esto último apoyado en un estudio experimental realizado por Wijnads y col., donde se restituye la arginina a través de administración de L-citrulina, evidenciando un aumento en la producción de óxido nítrico y mejoría en la microcirculación durante la endotoxemia provocada en modelos murinos (50). La suplementación con L-citrulina durante la endotoxemia influye de manera positiva en la microvasculatura intestinal en comparación con L-arginina, por lo tanto el dar suplementos con L-citrulina aumenta las concentraciones plasmáticas y tisulares de arginina y citrulina, que conlleva a una mejoría de la producción intracelular de NO en el intestino en comparación con el suplemento con L-Arginina que no aumenta la disponibilidad de arginina intracelular, de ahí que consideramos que la L-citrulina tiene efectos sobre este mecanismo. A nivel del tejido yeyunal, en sujetos a quienes se les administró L-citrulina mostraron en comparación con el grupo de suplementados con L-Arginina, un aumento en el grado de fosforilación de la eNOS (Ser 1177) y una disminución en el nivel de proteína iNOS. En síntesis, se demuestra que la L-citrulina mejora la microcirculación, dando como resultado aumento en el plasma y tejidos de citrulina, arginina y eNO durante endotoxemia. Los efectos positivos de la suplementación con L-citrulina están en paralelo con el aumento de los niveles funcionales de proteína eNOS y la reducción de los niveles de proteína iNOS durante endotoxemia (46,50).

La L-citrulina aumenta la concentración de L-arginina, que a su vez es importante en el mantenimiento del equilibrio de oxidantes, del eNOS y antioxidantes en la sepsis. La producción *de novo* de arginina en la sepsis, está disminuida, y aumenta la producción de iNOS, que resulta en el aumento de ROS y del estrés oxidativo, promoviendo una respuesta proinflamatoria (IL-6, IL-8, FNT); al proporcionar suficiente arginina para la eNOS con la suplementación de citrulina el estrés oxidativo y la producción de las citocinas proinflamatorias pueden disminuir. En modelos animales la administración con citrulina disminuye la IL-6 y la resistina (51).

Andrade y col., evaluaron los efectos de la citrulina sobre la integridad de la barrera intestinal y la translocación bacteriana (TB) en ratones sometidos a obstrucción intestinal, y demuestran que el grupo de ratones a quienes se les había administrado siete días previos citrulina eran capaces de preservar la integridad de la barrera intestinal y también modular la respuesta inmune ; a nivel histopatológico se mostró que aquellos con tratamiento a base de citrulina conservan la integridad de la mucosa del íleon, se observó además que las concentraciones de inmunoglobulina A son mayores en el grupo de ratones que recibieron citrulina y presentaron niveles más elevados de interferón- $\gamma$  (52,53).

Yi y su grupo provocaron, en modelos murinos, daño en la mucosa gástrica por isquemia-reperfusión y administraron enteralmente citrulina, observaron que en aquellos modelos murinos a quienes se les dio citrulina, se previno el incremento de la actividad de la iNOS y se inhibió la infiltración de neutrófilos al tejido (54).

En humanos, Ware y col. Demostraron una asociación significativa entre los niveles más bajos de citrulina y la aparición de Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda (SIRA) en pacientes con sepsis; las causas de esta disminución de citrulina en pacientes críticos se debe, en un inicio por el aporte nutricional deficiente, común en las primeras etapas de la enfermedad aguda, lo que puede ser un posible mecanismo que conduce a niveles bajos de sustrato para la producción de citrulina, sin embargo los niveles de otros aminoácidos como glicina y glutamina, están en rango normal, lo que sugiere que la disminución de la ingesta nutricional no es la causa primaria de la disminución de los niveles de arginina y citrulina (55).

Los enterocitos intestinales son una fuente importante en la producción de citrulina, mismos que pueden estar lesionados en la enfermedad crítica, la citrulina se ha propuesto como un marcador pronostico en aquellos pacientes con falla intestinal aguda.

Los resultados de Ware y los estudios experimentales justifican realizar un estudio de suplementación de citrulina en los pacientes sépticos (56).

Actualmente se encuentran registrados varios estudios del uso de citrulina en pacientes en estado crítico registrados en Clinical Trials.gov, algunos de ellos son:

- L-citrulline supplementation during sepsis. ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT 00628381 registrado en 2008, ultima modificación 2010.
- Effects of oral citrulline on protein metabolism in patients with intestine failure.

ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT 01386034, June 2011.

- Citrulline in severe sepsis. (High dose citrulline, placebo, low dose citrulline). ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT 01474863, Aug 2012.

## **II. M. ESCALAS DE SEVERIDAD.**

Como parte de la evaluación clínica de los pacientes con sepsis se utilizan los modelos pronósticos conocidos como escalas de severidad que ayudan a estratificar a los pacientes en función a la gravedad de su enfermedad y el daño a órganos específicos basados en parámetros bioquímicos y clínicos. Esta evaluación se hace de forma rutinaria en los servicios clínicos de forma internacional.

Las escalas de severidad del enfermo crítico actualmente utilizadas se componen usualmente en dos partes: la escala por sí misma y un modelo de probabilidad. La escala por sí misma es numérica (al número más alto le corresponde la severidad más alta) y el modelo de probabilidad es una ecuación que determina la probabilidad de muerte hospitalaria de los pacientes. El principal punto final de la mayoría de estas escalas es usualmente la *mortalidad a corto plazo* dado que la secuencia de hechos biológicos en las enfermedades críticas amerita seguimiento a plazos que generalmente no son mayores a 30 días (57,58,59,60). Los principales modelos de predicción para evaluar la severidad de la enfermedad en los pacientes adultos críticamente enfermos, son la *escala APACHE* (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation), la *escala SAPS* (Simplified Acute Physiological Score) (61,62,63).

La escala APACHE, se desarrolló inicialmente en la década de los ochenta, cuenta con tres actualizaciones de la versión original. La primera versión, tenía como finalidad la estratificación de la severidad de la enfermedad en la versión II hasta la IV, se ha empleado análisis estadístico para la selección de las variables, de acuerdo a su peso específico con modelos de regresión logística (64,65). Para la evaluación y construcción se utilizan variables fisiológicas obtenidas durante las primeras 24 horas de estancia en una unidad de cuidados intensivos (UCI), así como diagnóstico de ingreso, comorbilidades, edad y otras características dependiendo de la versión que se utilice, conforme se han aumentado el número de variables la escala de ha actualizado con versiones III y IV, con la finalidad de mejorar su capacidad predictora (66,67).

Esta escala predice la mortalidad en UCI y hospitalaria en general, tiempo de estancia en UCI y hospitalaria, duración de la ventilación mecánica, riesgo de necesidad de un tratamiento activo durante su estancia en UCI, probabilidad de uso de catéter arterial pulmonar y potencial riesgo de transferencia a UCI; es una de las escalas más utilizadas y el número de variables utilizadas es mayor que otras escalas empleadas.

La escala SAPS, originalmente elaborada en su primera versión a partir de datos obtenidos de ocho terapias intensivas en Francia, que incluía la edad y 13 variables fisiológicas, todas ellas medidas en las primeras 24 h de estancia en UCI. Surge en la década de los noventa la segunda versión, elaborada a partir de la información de 137 UCI en 12 países de Europa y Estados Unidos, compuesta de 17 variables, de las cuales 12 son fisiológicas además de la edad, tipo de ingreso, y tres categorías de enfermedades subyacentes asociadas. Para su

calculo se empleaban los peores valores dentro de las primeras 24 hrs (67).

La tercer versión fue publicada en el año 2005, se obtuvieron datos de 303 UCI de los 5 continentes (y se incluyeron datos de México) con edad de inclusión a partir de los 16 años y se utilizó el 80% de la información de los pacientes para su construcción y el 20% restante para su validación; se compone de 20 variables, donde se incluyen la edad, tiempo de estancia antes del ingreso a UCI en días, localización previa al ingreso a UCI (urgencias, otra UCI, otros), comorbilidades presentadas en 7 categorías (calificadas como ausente o presente), tipo de ingreso a UCI (planeado o no planeado), motivo de ingreso agrupado por sistemas (neurológico, cardiovascular, hepático, digestivo), estatus quirúrgico al ingreso (programado o urgente), sitio anatómico quirúrgico, presencia de infección aguda al ingreso a UCI (en dos categorías: nosocomial y respiratorias), y finalmente las fisiológicas, donde se incluyen la escala de coma no traumática de Glasgow, bilirrubina total, temperatura corporal, creatinina sérica, frecuencia cardíaca, leucocitos totales, concentración de hidrogeniones, conteo de plaquetas, presión sistólica (menor) y oxigenación ( $\text{PaO}_2$  o uso de ventilación mecánica) se elabora a partir de datos obtenidos a partir de la primera hora de ingreso a la UCI y todos estos datos originan un resultado cuantitativo (67).

El concepto de falla orgánica múltiple surge en 1970 para poder describir la disfunción o la falla de un órgano; en el consenso realizado en Paris por la Sociedad Europea de Medicina de Cuidados Intensivos (ESICM) se propone la escala SOFA (Valoración de Falla Orgánica Múltiple Relacionada a la Sepsis) dado que es considerada para describir las complicaciones en los pacientes críticos.

Se estudiaron 1,643 pacientes con sepsis, tanto en Europa como en Norteamérica, inicialmente realizado para pacientes sépticos, al día de hoy no se limita sólo para ellos; la escala estudia 6 órganos que incluyen el aparato respiratorio, la coagulación, el hígado, cardiovascular, el SNC y el renal, usando la escala 0 (normal) y el número 4 (muy anormal) los datos que se valoran son los peores valores de cada día (66).

La *Escala de Disfunción Orgánica Múltiple (MODS)* originalmente desarrollada y validada a partir de los datos obtenidos de 696 pacientes, combina seis componentes fisiológicos: cardiovascular (frecuencia cardíaca, presión venosa central/ presión arterial media) indicador conocido como frecuencia ajustada a presión (FAP); respiratorio ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ); renal (creatinina sérica); sistema nervioso central (escala de coma de Glasgow); hepática (bilirrubinas séricas totales) y hematológica (cuenta plaquetaria); los valores posibles por cada sistema van de 0 a 4, cero representa la normalidad y 4 una máxima alteración funcional, con un puntaje máximo de 24 puntos.

Por la alta mortalidad de los pacientes con sepsis, este grupo de sujetos son de gran interés y diversos grupos de investigación buscan disminuir la respuesta inflamatoria con la finalidad de impedir la progresión a disfunción orgánica múltiple y muerte, por lo que consideramos que en base a los antecedentes escritos previamente, una línea de tratamiento podría ser suplementación con L-citrulina para la restauración de Noe en pacientes con sepsis. En el presente trabajo abordaremos dos aspectos fundamentales que son el efecto de la citrulina sobre la evolución clínica de la sepsis y bioquímica de la misma.

Cuando se habla de **evolución clínica** se refiere, al efecto que tendrá la citrulina para disminuir la progresión a etapas finales o más graves de sepsis como son (disfunción orgánica múltiple y muerte) estos son los desenlaces que se consideraran valiosos desde el punto de vista clínico. Las escalas de predicción clínica mencionadas previamente, todas han demostrado tanto estadística como clínicamente ser buenas predictoras en la evolución del paciente críticamente enfermo. En relación al efecto de la citrulina sobre la evolución **bioquímica** en la sepsis, basados en la cadena causal y la plausibilidad biológica, se considera pertinente medir algunos biomarcadores como: IL1-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF $\alpha$ , Nox y microalbuminuria y conocer su comportamiento, en los pacientes con sepsis a quienes se les administra citrulina.



### III.JUSTIFICACION.

Apoyados por los estudios referidos en el marco teórico, y en relación a la disminución de niveles de citrulina en pacientes críticos y su asociación con muerte a los 28 días, así como la evidencia de que aquellos pacientes expuestos a cirugías mayores muestran bajos niveles de este aminoácido, y la asociación de niveles bajos de citrulina en pacientes con SIRA (síndrome de insuficiencia respiratoria aguda) en conjunto con los estudios experimentales realizados por diferentes grupos de trabajo a nivel mundial que evidencian la utilidad de la administración de citrulina en modelos murinos con sepsis inducida, consideramos que existe evidencia científica (en modelos animales y en humanos) suficiente y necesaria (como bien lo señalan Cynober Luc y las Recomendaciones para el Soporte Nutricional y Metabólico Especializado del Paciente Crítico) para suplementar citrulina en los sujetos críticamente enfermos con sepsis. (41,43,44,49,50,51, 52,55,54,56).

Consideramos que, en el campo de la inmunonutrición en pacientes con sepsis aun no se ha explorado la utilidad de la citrulina, suplementando este aminoácido vía enteral durante la endotoxemia, antes de la aparición de disfunción orgánica múltiple, esperando una mejorara la barrera intestinal y la microcirculación, retrasando la aparición a disfunción orgánica múltiple, disfunción endotelial y muerte, aun quedan preguntas por responder en pacientes con sepsis, motivo por el cual es necesario estudiar el efecto de este aminoácido en pacientes con sepsis y determinar su utilidad tanto en la evolución clínica y bioquímica dado que no son solamente implicaciones clínicas (morbimortalidad), sino que un paciente críticamente enfermo con una evolución tórpida, puede permanecer durante mas tiempo en los servicios de hospitalización y de terapia intensiva, lo cual afecta a corto y largo plazo otros estimadores hospitalarios de costos de la atención, calidad de la atención e infecciones nosocomiales, que son necesarios evaluar después de estudiar la asociación con la mejoría clínica.

#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.**

En las unidades de cuidados intensivos la sepsis sigue siendo una de las principales causas de ingreso, y el choque séptico llega a representar de 40 a 70% de la mortalidad en éstas unidades de atención médica; se han buscado alternativas que disminuyan la respuesta inflamatoria y la disfunción endotelial para tratar de preservar la homeostasis, y la piedra angular del tratamiento continua siendo la erradicación del foco infeccioso, sin embargo el administrar antibióticos no contrarresta los efectos sobre la disfunción endotelial propios de la sepsis, para ello se han probado inmunonutrientes como parte de la terapia adyuvante, tal es el caso de la arginina y glutamina, sin embargo no han demostrado eficacia en los desenlaces duros (como la mortalidad). La citrulina es un aminoácido no intermedio que es precursor del óxido nítrico endotelial que no es degradado por las arginasas plasmáticas y actúa directamente en el órgano blanco, que en este caso es el endotelio. Por esta razón nuestro equipo de investigación, consideró un campo adecuado para explorar su eficacia como terapia adyuvante en los pacientes con sepsis, que si bien no es un tratamiento definitivo, puede ayudar a mantener la homeostasis en el tiempo que la terapia antibiótica logra erradicar la infección, clínicamente y científicamente, el probar éste inmunonutriente dará pauta para poder administrarlo de manera temprana en éste grupo de pacientes, por lo que nos planteamos las siguiente preguntas:

1. ¿Cuál es el efecto de la citrulina sobre la evolución clínica y bioquímica en los pacientes con sepsis?
  - a) ¿Cuál es el resultado de la administración de citrulina sobre la progresión a disfunción orgánica múltiple en los pacientes con sepsis?
  - b) ¿Cuál es el efecto de la administración de citrulina sobre la mortalidad en los pacientes con sepsis?
  - c) ¿Cuál es el efecto de la administración de citrulina sobre las concentraciones de la IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF $\alpha$ , Nox y microalbuminuria?

## **V. OBJETIVO GENERAL**

1. Determinar el efecto de la administración de citrulina sobre la evolución clínica y bioquímica en los pacientes con sepsis.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO, CON CITRULINA O CON PLACEBO:

- a. Comparar la presentación de disfunción orgánica múltiple en los pacientes con sepsis.
- b. Determinar la mortalidad a 28 días en los pacientes con sepsis.
- c. Comparar el efecto de la dosis de citrulina con las concentraciones de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF $\alpha$ , Nox y microalbuminuria en pacientes con sepsis.

## **VI. HIPÓTESIS.**

1. La administración de citrulina en los pacientes con sepsis se reflejará en una mejoría de la evolución clínica y bioquímica.
  - a) La administración de citrulina en pacientes que presentan sepsis se asociará con una disminución de progresión a disfunción orgánica múltiple en un 10% comparado con aquellos sujetos sin suplementación con citrulina.
  - b) La administración de citrulina se asociará con un 5% menos de incidencia de muerte en pacientes con sepsis.
  - c) Los pacientes del grupo con tratamiento habitual más citrulina, tendrán una reducción de al menos 10% más de la alcanzada con el tratamiento habitual con placebo en los niveles de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12 p70, TNF $\alpha$ , Nox, microalbuminuria, así como una elevación de al menos 10% de la IL-10.

## VII. PACIENTES Y MÉTODOS.

### MARCO POBLACIONAL:

- *Población Diana:* Pacientes con diagnóstico de sepsis con tracto digestivo útil.
- *Población Accesible:* Pacientes hospitalizados de la UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI

### DISEÑO MUESTRAL:

- a) Tipo de muestreo: No Aleatorio de casos consecutivos.
- b) Tamaño de muestra: Al no existir antecedente en humanos sobre la utilidad de este aminoácido en sepsis se planteo como un estudio piloto,
- c) El tamaño de la muestra se calculó con base al valor de la media de glucosa reportada por Hicker y cols.
- d) Dando una  $\alpha = 0.05$  y un poder de  $= 80\%$ , se determinó que el número de sujetos para participar en cada grupo era de 23. Sin embargo, este número se incrementó a 27 por una posible tasa de abandono o perdidas del 20%. los resultados obtenidos sentaran las bases para estudios subsecuentes (68)

### DISEÑO DEL ESTUDIO:

Ensayo clínico controlado triple ciego, experimental, longitudinal, prospectivo, prolectivo y aleatorio por bloques balanceados

**Tabla 4. Criterios de selección de la población de estudio.**

INCLUSIÓN	NO INCLUSIÓN	ELIMINACIÓN
Edad > 18 años.	Antecedente de ser portadores de insuficiencia hepática aguda o crónica.	Retiro voluntario del estudio.
Cualquier género.	Disfunción orgánica múltiple	Confirmación de HIV.
Aceptar participar con firma del consentimiento informado Previa firma	Ingesta de esteroides o inmunosupresores en los 3 meses previos o enfermedad autoinmune	
Diagnóstico de sepsis o sepsis grave.	Neoplasias extracraneales.	
Primeras 24-48 horas de haber hecho el diagnóstico.	Pacientes con AKIN III.	
Tracto intestinal integro (de acuerdo con el criterio clínico: pacientes con posibilidad de recibir alimentación enteral ya sea por vía oral o por sonda).	Posparo cardiorespiratorio o muerte cerebral. Pacientes moribundos	
	Sangrado de tubo digestivo	
	Embarazo o puerperio.	

**Tabla 5. Clasificación de AKIN**

ESTADIO	CREATININA	GASTO URINARIO
1	Incremento de Cr más de 1.5 o > 3 mg/dl	< 0.5 mg/kg/ hr por 6 hrs
2	Incremento de Cr x 2	<0.5 ml/ Kg/ hr
3	Incremento de Cr x 3 ó Cr > 4 mg/dl	< 0.3 l/ kg / hr por 24 hrs ó anuria x 12 hrs

**Tabla 6. Descripción de las variables.**

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN
<b>Citrulina</b>	Aminoácido no esencial intermediario del ciclo de la urea.	Administración enteral de citrulina exógena 10 gr/día	Independiente o predictora	Cualitativa nominal dicotómica	Si / No
<b>Choque séptico</b>	Sepsis asociada a hipotensión refractaria a líquidos, con signos de hipoperfusión y disfunción orgánica.	Sepsis grave, hipotensión, hipoperfusión y disfunción orgánica.	Dependiente o de desenlace	Cualitativa nominal dicotómica	Si / No
<b>Choque séptico refractario</b>	Choque séptico pese a aminas presoras	Choque séptico aun con aminas.	Dependiente o de desenlace	Cualitativa nominal dicotómica	Si / No
<b>Disfunción orgánica múltiple</b>	Es la disfunción de dos o mas órganos, de acuerdo a la escala MODS y SOFA. Ver anexos.	Es la disfunción de dos o mas órganos, de acuerdo a la escala MODS y SOFA. Ver anexos.	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa discreta	0-20 Números entero.
<b>Muerte</b>	Abolición irreversible de las funciones vitales del organismo	Muerte corroborada por exploración física y electrocardiograma.	Dependiente o de desenlace	Cualitativa nominal dicotómica	Si / No
<b>Microalbuminuria</b>	Excreción de albumina urinaria	20-200 mg/L	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa discreta	mg/L
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Citocina inflamatoria producida ante una respuesta sistémica	Variable se compararon entre ambos grupos	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa continua	pg/ml
<b>IL-6</b>	Citocina inflamatoria producida ante una respuesta sistémica	Variable se compararon entre ambos grupos	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa continua	pg/ml
<b>IL-12p70</b>	Citocina inflamatoria producida ante una respuesta sistémica	Variable se compararon entre ambos grupos	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa continua	pg/ml
<b>IL-8</b>	Citocina inflamatoria producida ante una respuesta sistémica	Variable se compararon entre ambos grupos	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa continua	pg/ml
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Citocina inflamatoria producida ante una respuesta sistémica	Variable se compararon entre ambos grupos	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa continua	pg/ml
<b>IL-10</b>	Citocina antiinflamatoria	Variable se compararon entre ambos grupos	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa continua	pg/ml
<b>NO x</b>	Nitros y nitritos	Variable se compararon entre ambos grupos	Dependiente o de desenlace	Cuantitativa discreta	pg/ml
<b>APACHE II</b>	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II. Dentro de las primeras 24 horas de ingreso a UCI.	Escala de severidad dentro de las primeras 24 horas. Ver anexos.	Demográfica	Cuantitativa discreta	Números entero 0-71.
<b>SOFA</b>	Sequential organ failure assessment	Escala de severidad que se toma diariamente	Demográfica	Cuantitativa discreta	Números entero. 0-24

Figura 2. Asignación de grupos

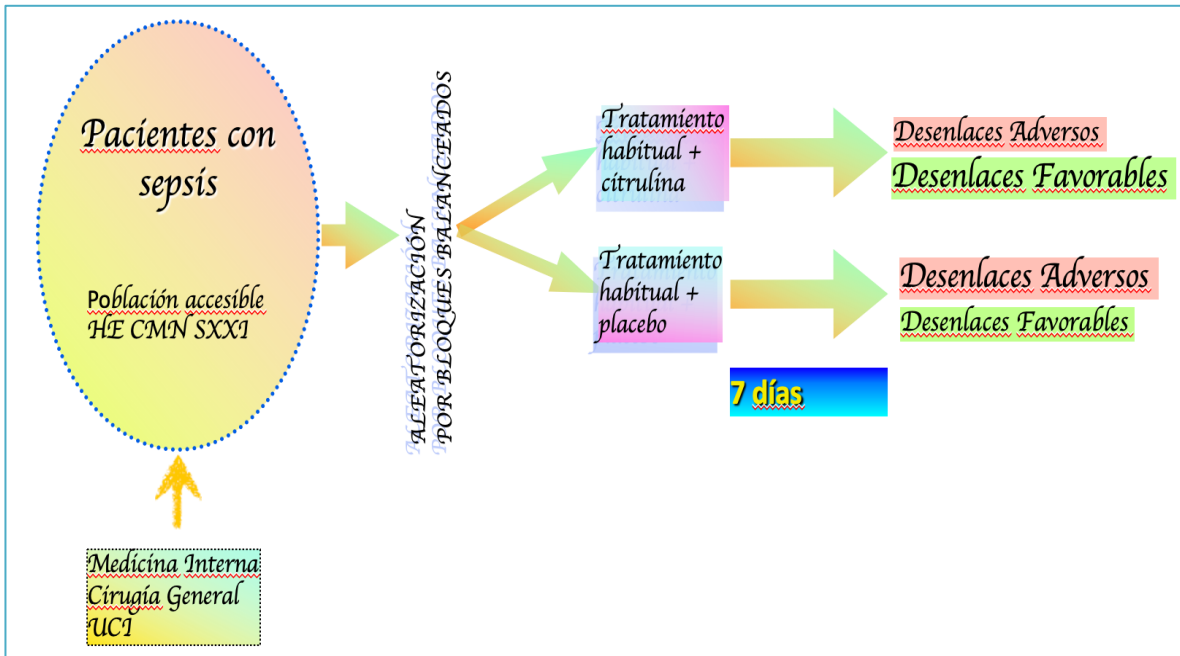
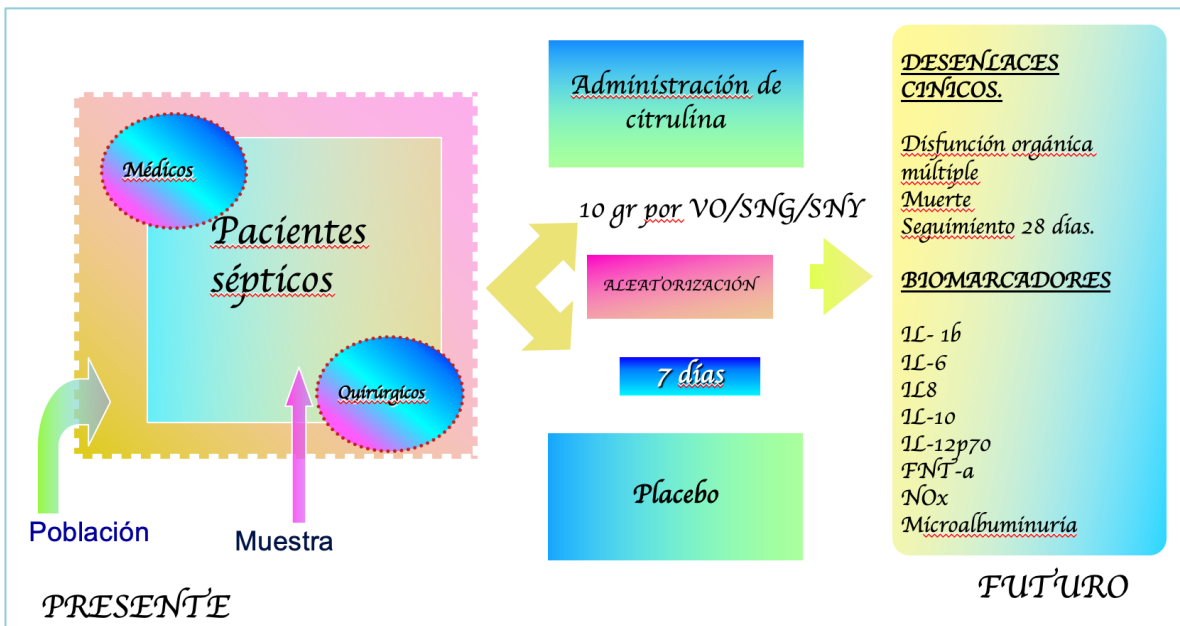


Figura 3. Desenlaces clínicos y bioquímicos.



## VIII. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.

### 76) Reclutamiento:

Se incluyeron a los pacientes ingresados al Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional SXXI, con diagnóstico de sepsis grave dentro de las primeras 24 horas de acuerdo a la Segunda Conferencia Internacional de Definiciones en Sepsis

El tiempo cero se considero cuando el paciente termino de reanimarse de acuerdo a las Guías de la campaña sobreviviendo a la sepsis, continuando su manejo habitual al establecido en el manejo de la patología.

Si el paciente reunía los criterios de inclusión, se invitaba a participar en el estudio en caso de no poder hacerlo por las condiciones propias de la enfermedad se hacia extensiva su inclusión a su familiar responsables, se explicó de manera sencilla en que consistía, se aclararon dudas o inquietudes y finalmente se firmaba la carta del consentimiento informado de acuerdo a los requerido por el Comité de Investigación y Ética de la Unidad. (Anexo XVII.A.)

### B) Asignación de la Maniobra:

Previa explicación del estudio por médico no involucrado en el manejo de los pacientes (alumno de maestría), previa firma del consentimiento informado del familiar y si es posible del paciente, se asignó de manera aleatoria a través de sobre cerrado, por bloques balanceados de 5 sujetos en dos grupos a unos se les dio el suplemento con citrulina y el otro grupo recibió placebo.

El proceso de aleatorización fue ejecutado por la Jefa de Enfermeras de la UCI (previo adiestramiento por el equipo de investigadores principales), las dosis de citrulina y placebo se prepararon en un espacio físico que tiene campana laminar, donde de manera habitual se preparan medicamentos intravenosos baja las más estrictas medidas de higiene.

### C) Presentación del medicamento (citrulina y placebo):

El aminoácido llamado citrulina fue proporcionado por el laboratorio mexicano PRONAB mismo que ha participado con la clínica de insuficiencia cardiaca bajo el liderazgo del Dr. Tejeda Orea, físicamente se encuentra en polvo como malato de citrulina que lo hace más estable al medio ambiente y a la administración enteral en los pacientes, cada sobre contenía 10 gr de malato de citrulina, la dosis se determinó basados en los estudios de farmacocinética considerados útiles en la aplicación clínica por Moinard, (36) los lotes de citrulina y de placebo, tenían un etiquetado similar, las característica físicas, el sabor, el olor y color eran idénticos lo que impedía conocer cual era la sustancia activa.

El placebo fue hecho con maltodextrina producida a partir del almidón de maíz como materia prima, tiene buena fluidez y solubilidad, sin olor con bajo aporte calórico y sin tener altos



contenidos de carbohidratos, posee alto poder de disolución en medio acuoso, generalmente contribuye a mejorar la estructura de los alimentos.

En las áreas de aplicación es un aditivo en la industria alimentaria en general y productos farmacéuticos. Dentro de sus beneficios es un extensor, estabilizante y reestructurador.

Composición: Producto obtenido durante la hidrólisis del almidón de maíz.

Descripción: Polvo amorfo blanco sin olor, pH: 4.0 – 6.0, solubilidad (%):  $\geq 98$ .

Tanto el placebo como la citrulina se encontraban disponibles en la Jefatura de Enfermería de la UCI.

#### D) Administración de la sustancia activa:

Una vez que el familiar o el paciente aceptaba su ingreso al estudio, previa reanimación según lo estipulado por la Guías de sobrevivir a la sepsis, una vez que se encontraba hemodinámicamente estable y con un tracto intestinal íntegro (sin contraindicación para el uso de vía enteral, como cirugías intestinales), el médico tratante indicaba el inicio del suplemento por vía oral o enteral a través de sonda nasogástrica o nasoyeyunal.

La preparación del aminoácido se realizó en la unidad metabólica de la unidad, bajo campana de flujo laminar el sobre de 10 gr era disuelto en 100 ml de agua purificada y se le ofrecía al paciente, en caso de que el paciente tuviera sonda nasogástrica se administraba la misma cantidad por esta vía, durante siete días consecutivos, la suplementación se realizó en las primeras 24 horas. Se colocó en la tabla de signos vitales de cada paciente el algoritmo de la nutrición enteral (Anexo XVII.B) así como la tabla de eventos adversos (Anexo XVII.C), los investigadores cotejaron la información.

#### E) Procedimientos Comunes a los Grupos de Estudio:

Todos los pacientes con sepsis continuaron con su tratamiento de manejo de sepsis de acuerdo a las guías de la Campaña sobrevivir a la sepsis, solo que unos recibieron suplementación con citrulina y otros no, los investigadores no influyeron en ninguna decisión de los médicos tratantes.

#### F) Adherencia al tratamiento.

El grupo investigador corroboró en todo momento la adecuada preparación, administración y término de la suplementación, se realizó una hoja de recolección, se consideró adherencia al tratamiento si cumplía al menos cinco días continuos de administración del aminoácido. Se tomó en cuenta en el análisis el porcentaje de adherencia en los grupos, con un 98% de apego en todos los sujetos, el suplemento y/o placebo fue administrado por el personal médico y/o de enfermería durante la hospitalización. El control de las sustancias administradas lo lleva la enfermera de manera rutinaria tanto en las hojas de indicaciones médicas como en la hoja de enfermería de todos los turnos.

#### G) Control de la contaminación y intervención.

No hubo suplementación oral o parenteral de otro tipo de aminoácidos en ninguno de los grupos, solamente el tratamiento habitual hospitalario en ambos grupos; el grupo control no recibió dosis de citrulina solo placebo. Todos los pacientes recibieron el tratamiento habitual, incluyendo antibióticos y aminos en caso de requerirlo, además de la nutrición enteral polimérica, por lo que no hubo interferencia entre las maniobras periféricas a la maniobra del estudio.

#### H) Cegamiento:

El paciente, el investigador responsable y el investigador a cargo del análisis no supo a que grupo de tratamiento correspondía cada sujeto.

El encargado de recolectar los datos tampoco sabía a que grupo pertenecía cada paciente.

La logística del cegamiento fue porque la citrulina que se tenía disponible en forma activa y el placebo eran sobres idénticos que el fabricante proporciono con las mismas características físicas, fueron empacados de igual manera y solo eran distinguibles por un código numérico que tenía el fabricante de éste suplemento; por lo tanto, la persona encargada de la asignación aleatoria y las personas encargadas de la administración de éste suplemento, no conocían si están trabajando con sustancia activa o placebo.

#### 76) Seguimiento y recolección de la información:

El médico encargado del estudio a través de la hoja de captura anotaba los datos demográficos como edad, genero, factores de riesgo, historia cardiovascular, características clínicas, diagnóstico de ingreso, escalas pronosticas como APACHE y SOFA, antibióticos empleados, cultivos reportados, electrocardiograma al inicio del estudio, a las 24 horas y a los siete días.

#### J) Toma de muestras biológicas:

A los pacientes ingresados al estudio se les tomo laboratorios que incluían biometría hemática, química sanguínea de 27 elementos, tiempos de coagulación, examen general de orina, pruebas de función hepática completa, ácido úrico, Hemoglobina glucosilada (Hb A1c), depuración de creatinina de 24 horas

#### Estudios de laboratorio y medición de las variables de desenlace:

Se realizaron estudios adicionales para la para la determinación de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- $\alpha$ , Nox y microalbuminuria.

### Microalbuminuria:

La determinación de microalbuminuria se realizó con material donado.

Se determinó la albumina en orina a través de un sistema cuantitativo, con el sistema Hemo Cue Albumina 201, analizador portátil que utiliza el método de inmunoturbidimetría con un volumen de muestra de 18 ul; con sensibilidad de 92% y una especificidad del 98% con un VPP 92% y un VPN 98%. El análisis se realizó con una sola muestra de orina preferentemente al ingreso del paciente al estudio el sistema se puede verificar usando controles líquidos. El analizador está calibrado de fábrica contra un método turbidimétrico trazable a CRM 470 y no necesita calibración, se debe almacenar el analizador a temperaturas de 0-50 ° C (32-122 ° F). Se conto con microcubetas envasadas individualmente para cada muestra de orina procesada y se almaceno a temperatura ambiente durante un máximo de 3 meses.

Método: Se realizó a través de un anticuerpo de conejo específico para el reconocimiento del anticuerpo policlonal (albumina- humano). La aglutinación se ve reforzada por polímeros. La turbidez de la aglutinación, una vez formado, se mide fotométricamente a 610 nm.

Principio: Cuando la reacción inmunoquímica se completa la turbidez se mide fotométricamente a 610 nm. La concentración de albúmina es proporcional a la turbidez y el resultado se muestra en la pantalla en mg / L (69).

### Óxido nítrico:

Para la determinación de Nox se realizó mediante la determinación de la cantidad total de nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) que son los productos estables del metabolismo de NO , se utilizara el reactivo de Griess (solución acuosa de sulfamida al 1% y naftilenetildiamina al 0.1% en  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (al 2.5%), el cual forma un cromóforo estable con  $\text{NO}_2^-$ , que se absorbe a 546 nm, la curva de calibración se hace con diferentes concentraciones de nitrito de sodio disuelto en NaCl al 0.9% (70). Se midieron además otros metabolitos como los Productos finales de la glucosilación (AGEs) y la vitamina C.

### Interleucinas:

Se utilizo un Kit de Citocinas Inflamatorias Humanas conocido como BD<sup>TM</sup> Cytometric Bead Array (CBA) para la medición cuantitativa de la IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70 y el TNF- $\alpha$ .

Los ensayos BDT<sup>M</sup> CBA proporcionan un método para capturar un analito soluble o un conjunto de analitos como una perla y fluorescencia conocidos, lo que hace posible detectar analitos mediante citometría de flujo. A esta primera forma de medición se le conoce como método estándar mediante la intensidad media de la fluoresceína de cada muestra e interpolándola en la curva estándar.

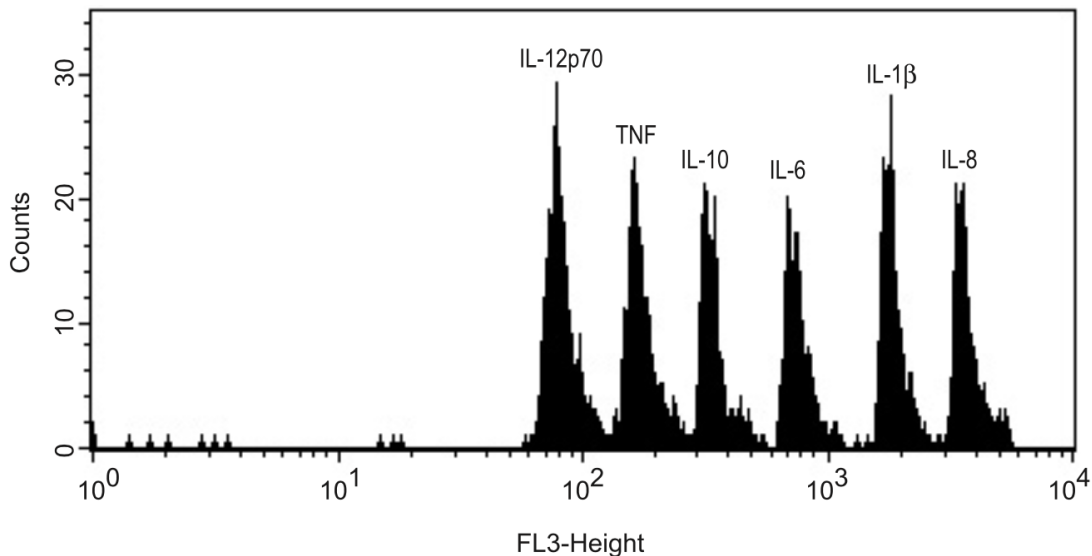
Cada perla de captura del kit se conjuga con un anticuerpo específico. El reactivo de

detección proporcionado en el kit es una mezcla de anticuerpos conjugados con ficoeritrina (PE), que proporciona una señal fluorescente en proporción a la cantidad de analito unido.

Cuando las perlas de captura y el reactivo detector se incuban con una muestra desconocida que contiene analitos reconocidos, se forman complejos sándwich (perla de captura + analito + reactivo de detección). Estos complejos se pueden medir usando citometría de flujo para identificar partículas con características de fluorescencia tanto de la perla como del detector.

Se han recubierto seis poblaciones de perlas con distintas intensidades de fluorescencia con anticuerpos de captura específicos para las proteínas IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IL-12p70. Las seis poblaciones de perlas se mezclan para formar la matriz de perlas que se resuelve en un canal rojo (FL3 o FL4) de un citómetro de flujo (ver Figura 1).

**Figura 4.** Gráfico de la citometría de flujo.



Durante el procedimiento de ensayo, se mezclan las perlas de captura de citocinas inflamatorias con los estándares recombinantes o muestras desconocidas y se incuban con los anticuerpos de detección conjugados con PE para formar complejos sándwich. La intensidad de la fluorescencia de PE de cada complejo sándwich revela la concentración de esa citoquina.

Después de adquirir muestras en un citómetro de flujo, se utilizó el software FCAP Array<sup>TM</sup> para generar resultados en formato gráfico y tabular y la unidad de medición se expresó en pg/mL (picogramos mililitro).

Todos los pacientes continuaron siendo manejados por los médicos adscritos de la UCI, los investigadores no influyeron en las decisiones terapéuticas. Se realizó un seguimiento prospectivo de la evolución de los mismos contando los desenlaces que se propusieron como variables dependientes. La recolección de la información se realizó por el investigador responsable, quien estaba cegado al grupo de tratamiento asignado. El estudio terminó a los 28 días de seguimiento del paciente.

#### K) Evaluación de la eficacia.

Se esperaba que hubiese un retraso en la progresión a falla orgánica múltiple en un 20% y una disminución de los biomarcadores en la misma proporción esto traduciría a que la administración de citrulina de manera objetiva es útil en los pacientes con sepsis grave en etapas, se correlaciono con las escalas de gravedad APACHE y SOFA.

#### L) Evaluación de la Seguridad:

No se ha encontrado efecto adverso en los sujetos sanos en ningún estudio realizado, siendo incluso seguro al usarse de manera intravenoso, en estudios realizados en niños sometidos a cirugía cardíaca, se ha usado también en mujeres embarazadas, se han excluido a pacientes con falla hepática y/o renal. Se tomaron los síntomas de aquellos pacientes que no se concentraron sedados y/o intubados. Se registraron todas las constantes vitales y bioquímicas de rutina para determinar efectos secundarios y evaluar la seguridad de la citrulina.

A los pacientes con sepsis se les tomaron muestras sanguíneas por lo menos cada 24 horas, ya que esto se hace de rutina en la atención médica de estos pacientes, y es una manera de monitorizarlos bioquímicamente si se presentara alguna alteración.

Eventos adversos (EA): Evento nocivo no intencional que presenta el sujeto de estudio cuando se le administra producto farmacéutico, sin tener necesariamente una relación causal con dicho tratamiento. Los EA se refieren a la intensidad máxima con que el paciente y/o el investigador califican a los EA que sufre el enfermo, pueden dividirse en:

Leve; se presentan las alteraciones, pero se toleran fácilmente, moderado; las alteraciones sufridas son suficientes para provocar interferencia con actividades normales y severo; las alteraciones incapacitan al paciente para hacer las actividades normales.

Un evento adverso serio es cualquier evento adverso que a cualquier dosis dé como resultado; la muerte, ponga en peligro la vida, requiera de la hospitalización del paciente o prolongue la estancia del paciente que ya se encuentra en el hospital, que origine discapacidad/incapacidad persistente o significativa, que origine una anomalía congénita o cáncer, que requiera intervención médica o quirúrgica para prevenir secuelas permanentes y que desarrolle dependencia o abuso del medicamento.

La sobredosis se define como una exposición sin un objetivo terapéutico específico a una cantidad de medicamento de por lo menos el doble de la dosis diaria máxima indicada en el protocolo de estudio.

Se agrega hoja de eventos adversos serios que será utilizado en los pacientes a estudiar. (Anexo XVII.C.)

## IX. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las variables cualitativas se resumen con frecuencias absolutas y relativas; para los datos cuantitativos se analizó la distribución con prueba de Kolmogorov-Smirnof, y se utilizaron medianos con rangos intercuartílicos.

Se analizaron las características basales de los pacientes entre ambos grupos. Para las variables cualitativas se usó  $\chi^2$  o en caso de frecuencias observadas  $\leq 5$  Prueba Exacta de Fisher; mientras que la comparación de medias entre estos dos grupos fue hecha con t de Student para grupos independientes si cumple con criterios de distribución normal, en caso contrario con la alternativa no paramétrica U de Mann Withney, y se utilizó la prueba de Friedman no paramétrica para medidas repetidas.

Se realizó análisis de supervivencia con método de Kaplan-Meier por grupo de tratamiento; las curvas de supervivencia fueron comparadas con prueba *Log Rank*.

Todas las pruebas estadísticas fueron probadas bajo un nivel crítico de 95 (alfa 0.05).

## X. ASPECTOS ÉTICOS.

De acuerdo con la declaración de Helsinki (1964) que establece estándares de protección para las personas que participan en investigaciones y los principios éticos que deben regir la investigación clínica, junto con otros códigos referidos al mismo tema como en Código de Nuremberg de 1947 y las Recomendaciones del CIOMS (Council for International Organization for Medical Sciences) promulgada en 1982 y las Guías de Buenas Prácticas de Investigación Clínica adoptadas por la Reunión Internacional de Armonización el 1996. Por lo tanto, de acuerdo con la última modificación final adoptada fue de la Asamblea Médica Mundial de octubre de 2000 siendo las modificaciones más importantes las siguientes:

1. Se tiene en cuenta las poblaciones en las cuales se realizan las investigaciones, en defensa de los países en desarrollo y de los vulnerables. En el punto 19 se afirma “la investigación médica sólo se justifica si existen posibilidades razonables de que la población se beneficie de los resultados”.
2. Se enfatiza la necesidad de comparar los procedimientos nuevos con los mejores métodos probados y no se amplía el uso de placebo.
3. El investigador debe presentar al comité de ética independiente la información financiera, patrocinadores, posibles conflictos de interés e incentivos para sujetos.
4. El participante en la investigación deber ser informado acerca de las fuentes de financiamiento y de posibles conflictos de interés, y el investigador debe asegurarse que el individuo comprendió la información brindada en el consentimiento informado.

Riesgo de la Investigación: De acuerdo a estos principios se les solicitará a los participantes la firma del consentimiento informado. Basados en la Ley General de Salud, Título Segundo de los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, Capítulo 1, Artículo 17 esta investigación se clasifica como una categoría III con riesgo mayor que el mínimo.

Potenciales riesgos: Dada la naturaleza de la enfermedad y la falta de evidencia de efectos adversos de este suplemento de inmunonutrición, se incluyó en éste protocolo un Comité de Efectos Adversos, el cual se reunía al ingresar al estudio cada 15 pacientes; éste Comité estaba integrado por investigadores que participaban en el estudio, que tenían acceso a los datos clínicos pero que no estaban directamente relacionados con la atención del paciente. Una de las principales funciones de este comité fue, suspender anticipadamente el estudio en caso de ser necesario de acuerdo a diferencias significativas en sobrevida de los pacientes.

Potenciales beneficios: hasta el momento no se conoce los efectos adversos y probablemente los pacientes no reciban un beneficio directo en su participación.

El balance riesgo-beneficio, en base a los antecedentes ya descritos, se orienta favorablemente al beneficio que potencialmente obtendrán estos sujetos, que, por las características de la enfermedad, tienen alta morbimortalidad y no existe un tratamiento estándar, aunado a la evidencia de beneficio en sujetos en estado crítico (incluso en niños y mujeres embarazadas) que reciben este suplemento con prácticamente ausencia de reportes de efectos secundarios.

Mecanismo a través de los cuales se garantizó la confidencialidad: una vez obtenido el consentimiento informado se asignó una clave numérica a cada hoja de recolección de datos, solo la persona que pedía el consentimiento tuvo acceso al número. El uso de los mismos quedó restringido a los investigadores y al tutor para su análisis, interpretación y publicación de las conclusiones.

El consentimiento informado, fue solicitado por el familiar por el personal médico que no estaba involucrado en la atención del mismo, por la patología propia no se pidió al paciente, cabe mencionar que si el paciente estaba en condiciones el autorizaba con aval de su familiar y se explicaba de manera amplia que este tratamiento no interferiría con la atención médica habitual del sujeto y se evitaría cualquier influencia externa indebida.

Selección de los potenciales participantes: los pacientes incluidos fueron los derechohabientes del IMSS con diagnóstico de sepsis, previamente valorados por el investigador participantes y que aceptaron participar en el estudio.



## **XI. RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

### **Recursos humanos:**

- Investigadores principales: cuenta con formación en especialidad y sub-especialidad de medicina, así como maestría en ciencias médicas y en proceso de titulación de doctorado en ciencias médicas.
- Alumna de maestría: cuenta con especialidad y sub- especialidad de medicina; alumna de maestría en ciencias médicas.
- Médicos de terapia intensiva: son especialistas en medicina y sub-especialistas; laboran habitualmente en la Unidad de atención donde se realizo el estudio.

### **Recursos físicos:**

- Para la captura de los pacientes se utilizaron hojas de recolección realizadas por los investigadores, papel blanco e impresora. Computadora de uso personal del investigador.
- Se contó con formato para la recolección de datos, bolígrafos, lápiz. Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 20
- Los recursos físicos con los que habitualmente tienen las unidades de los hospitales participantes (cama censable y no censable hospitalaria).

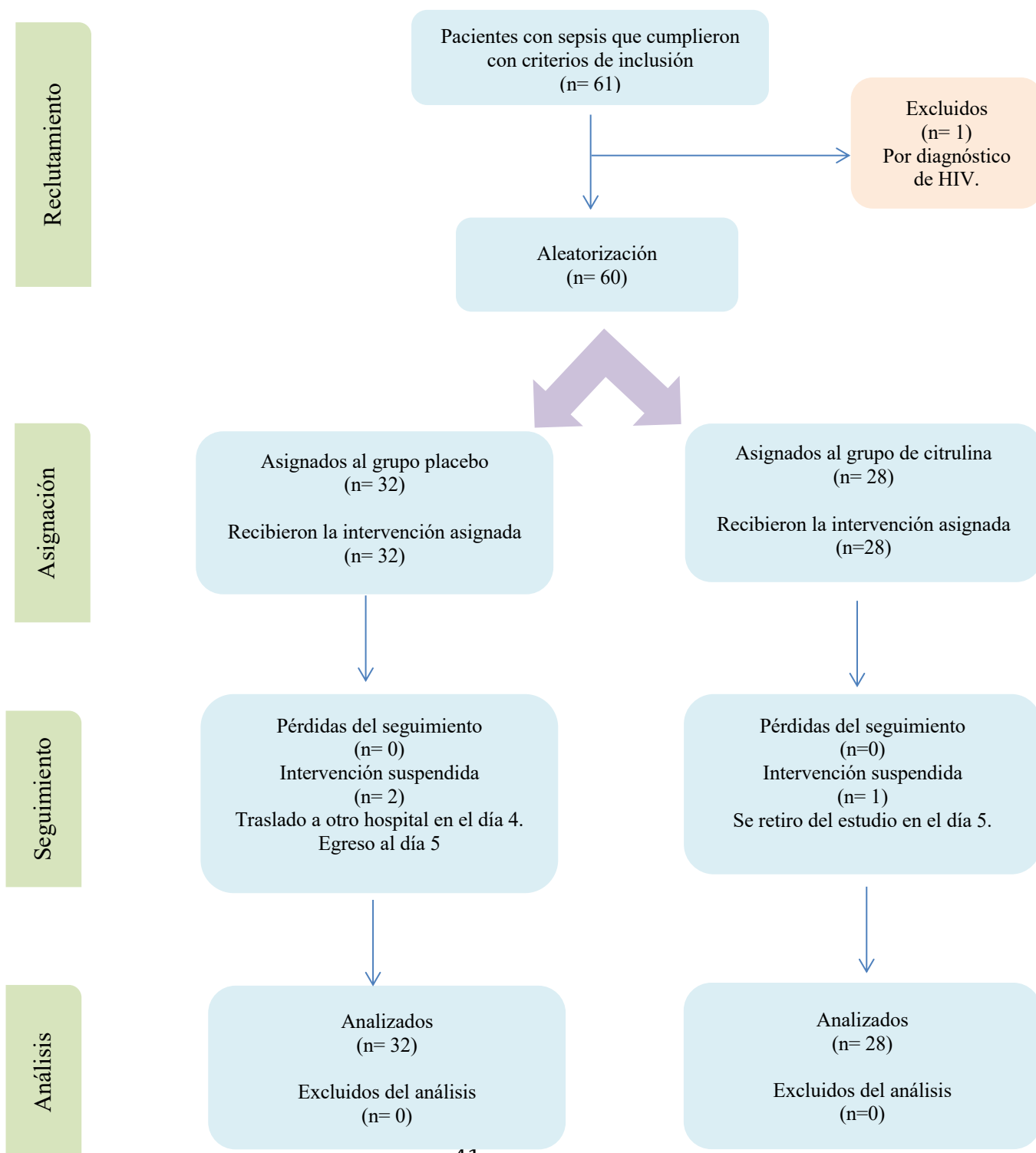
### **Factibilidad:**

El universo de trabajo se realizo con los pacientes con diagnóstico de sepsis admitidos en la UCI del Hospital de Especialidades CMN SXXI.

## XII. RESULTADOS

Se incluyeron a 60 pacientes de los cuales 28 fueron asignados al grupo de citrulina y 32 al de placebo, se excluyo a un paciente con diagnóstico de HIV, como se muestra en la figura 4.

**Figura 5. Registro y aleatorización de pacientes**



Las características basales de ambos grupos fueron muy similares, con una mediana de edad de 54.5 años (43-65.7 años), del total de la población estudiada fueron 33 mujeres y 27 hombres.

**Tabla 7. Características demográficas entre los grupos.**

Características	Placebo n=32 (%)	Citrulina n=28 (%)	p
Edad	54.5 (43-65.7)	54.5 (43-65.7)	0.44
Genero – No. (%)			
Mujer	18 (56.25)	15 (53.6)	0.43
Hombre	14 (43.75)	13 (46.4)	0.43
<b>Escalas pronósticas</b>			
APACHE II	13.50 (8.25-18)	19 (15.75-21.5)	<b>0.004*</b>
SOFA	4 (3-6)	8 (5-10)	<b>0.003*</b>
<b>Categorías a su admisión</b>			
Médica	9 (28.12)	9 (32)	0.27
Quirúrgica	23 (71.87)	19 (67)	0.27
Electiva	1 (4.34)	0 (0)	0.54
Urgente	22 (95.65)	19 (100)	0.54
<b>Origen de la infección</b>			
Neumonía	15 (46.87)	15 (53.57)	0.78
Absceso de cuello	10 (31.25)	9 (32.14)	0.78
Mediastinitis	2 (6.25)	3 (10.71)	0.78
Neuroinfección	2 (6.25)	0 (0)	0.5
Otros	3 (9.37)	1 (3.5)	0.78

Los datos son presentados como medianas y en %.

La significancia estadística fue considerada con un valor de  $p < 0.05$ .

Los pacientes del grupo de citrulina tuvieron a su ingreso una escala de APACHE II y SOFA mayor respecto al grupo placebo con una  $p= 0.004$  y  $p= 0.003$  respectivamente.

El 30% de los pacientes que ingresaron tenían una patología médica, el 70% restante fue admitido por un problema quirúrgico, que se resolvió de manera urgente en el 97% de los casos.

El foco infeccioso en la mitad de los pacientes fue a nivel pulmonar, seguido de los abscesos de cuello, mediastinitis y neuroinfección, en ambos grupos la distribución de estos padecimientos no tuvo diferencias significativas.

Respecto a la patología pulmonar secundaria a neumonía, los días de intubación para el grupo placebo fue de 5 días y para el de citrulina de 5.50, respecto a los requerimientos ventilatorios no hubo diferencias entre ambos grupos y la duración de la administración de los antibióticos fue de 7 a 7.5 días.

**Tabla 8. Evolución clínica entre los grupos de estudio.**

<b>Evolución</b>	<b>Placebo n=32 (%)</b>	<b>Citrulina n=28 (%)</b>	<b>p</b>
Días de intubación orotraqueal	5 (3-7)	5.50 (2-8.50)	0.68
PEEP (cmH20)	5 (5-7.5)	5 (5-10)	0.22
Indice de oxigenación basal (Pa02/Fi02)	205 (180-297)	200 (160-238)	0.24
Indice de oxigenación final (Pa2/Fi02)	230 (210-250)	240 (220-250)	0.75
Indice de F/VT (índice de Tobin)	44(33.7-44)	48 (40-70)	0.14
Kilocalorias/día	1500 (1500-1600)	1500 (1500-1600)	0.5
Antibiotico (días)	7 (3-9.5)	7.5 (4.7-10.5)	0.59

Los datos son presentados como medianas

La significancia estadística fue considerada con un valor de  $p < 0.05$ .

Ambos grupos recibieron en el 100% de los casos dieta enteral con un aporte calórico de 1500 kcal al día.

Ningún paciente presento eventos adversos al suplemento o placebo.

**Tabla 9. Características bioquímicas de los pacientes antes y después de la intervención.**

	<b>Placebo N= 32</b>	<b>Citrulina N=28</b>	<b>p</b>
Hemoglobina basal (g/dL)	11.6(10.2-13)	12.1(10.9-13.10)	0.5
Hemoglobina final (g/dL)	11 (9.7-11.7)	11.8 (10.3-13)	
Hematocrito basal (%)	33.4(30.3-37.4)	34.9 (30.7-38.7)	0.4
Hematocrito final (%)	32.7(28.7-34)	34 (31-38)	
Leucocitos basal (10 <sup>3</sup> /uL)	16(13.7-20.57)	15.9(13.3-21.7)	0.06
Leucocitos final (10 <sup>3</sup> /uL)	11.9(8.2-18.)	9.1 (8-12.6)	
Plaquetas basal (10 <sup>3</sup> /uL)	212(148-262)	189 (150-279)	0.8
Plaquetas final (10 <sup>3</sup> /uL)	251(175-321)	266(154-329)	
Glucosa basal (mg/dL)	148(111-198)	152.5(126.7-183)	<b>0.001</b>
Glucosa final (mg/dL)	122(100-164)	108 (97-122)	
pH basal	7.35(7.30-7.39)	7.36(7.26-7.38)	0.030
pH final	7.35(7.30-7.40)	7.36(7.32-7.40)	
Lactato basal (mmol/L)	1.7(1-2.2)	2(1.4-3.3)	0.3
Lactato final (mmol/L)	1(1-1.1)	1(1-1.3)	
Urea sérica basal (mg/dL)	33(22-49)	43.5(30.2-90.5)	<b>0.05</b>
Urea sérica final (mg/dL)	32.5(19.5-45.7)	35(23-50)	

Prueba de Wilcoxon.

La significancia estadística fue considerada con un valor de  $p < 0.05$ .

Basal= muestra tomada al ingreso

Final= muestra tomada a los 7 días del estudio.

En el grupo de citrulina al finalizar los 7 días se nota un mejor control glucémico de la misma manera en los niveles de urea en comparación con el grupo placebo.

**Tabla 10. Función renal en los grupos de estudio a su ingreso, 24 horas y 7 días.**

Función renal		Basal			24horas			7 días			Valor de p
		Mediana	p25	p75	Mediana	p25	p75	Mediana	p25	p75	
Microalbuminuria mg/L	Placebo	12	7	44	12	7	44	19	11	50	0.8
	Citrulina	10	8	40	10	8	40	18	5	28	
Creatinina mg/dL	Placebo	0.7	0.5	0.85				0.59	0.48	0.76	0.6
	Citrulina	1	0.66	1.26				0.7	0.48	1.03	
Depuración (ml/min)	Placebo	91	70	122				92	80	124	<b>0.001</b>
	Citrulina	60	44	122				90	57	110	
ACR*	Placebo	44.69	29.62	113.19	48.07	26.3	84.61	52.94	26.29	140.18	<b>&lt;0.0001</b>
	Citrulina	96.55	47.35	164.2	46.01	20.82	224	29.5	15.01	69.5	

Prueba de Friedman

La significancia estadística fue considerada con un valor de  $p < 0.05$ .

Basal= muestra tomada al ingreso del paciente

\*ACR= (albumina urinaria/creatinina urinaria)

Para evaluar la función renal se midió la microalbuminuria, creatinina, depuración de creatinina y el índice ACR.

Se puede visualizar que la depuración de creatinina y el índice albumina urinaria/creatinina urinaria (ACR) a los siete días en el grupo de citrulina fue mejor respecto al grupo placebo con una  $p < 0.001$  y una  $p < 0.0001$  respectivamente.

**Tabla 11. Comportamiento de las interleucinas, oxido nítrico, vitamina C y AGEs en el grupo placebo y de citrulina al ingreso y a los 7 días de tratamiento.**

Marcadores bioquímicos	Placebo			Citrulina			Valor de p	
	Mediana	p25	p75	Mediana	p25	p75		
IL12 pg/mL	Antes	4.14	4.14	4.26	4.14	4.14	4.14	1
	Después	4.14	4.14	4.26	4.14	4.14	4.26	
TNF pg/ml	Antes	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	1
	Después	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	5.94	
IL10 pg/ml	Antes	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3	1
	Después	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3	
IL6 pg/ml	Antes	72.67	37.78	178.65	67.66	15.93	179.81	0.03
	Después	8.94	5.09	36.32	12.15	6.51	18.56	
IL1 pg/ml	Antes	6.35	6.35	6.35	6.35	6.35	6.35	1
	Después	6.35	6.35	6.35	6.35	6.35	6.35	
IL8 pg/ml	Antes	26.49	9.27	71.93	26.03	13.13	67.55	<0.0001
	Después	11.34	5.32	19.59	8.26	5.32	21.48	
Nox uM	Antes	13.9	8.3	17.0	9.1	5.5	14.2	<0.0001
	Después	10.7	6.8	14.4	11.1	6.2	19.0	
Vit C uM	Antes	0.5	0.4	0.6	0.5	0.4	0.7	1
	Después	0.5	0.4	0.7	0.4	0.3	0.5	
AGEs uM	Antes	1.3	1.1	2.3	1.8	1.3	4.6	0.01
	Después	1.9	1.3	3.5	1.2	1.1	2.8	

Prueba de Wilcoxon.

La significancia estadística fue considerada con un valor de  $p < 0.05$ .

Antes= muestra tomada al ingreso

Después = muestra tomada a los 7 días del estudio.

AGEs (productos finales de glicación)

Hay una disminución de la IL-6, IL-8 en el grupo de citrulina con una  $p < 0.03$  y una  $p < 0.0001$  respectivamente.

Los metabolitos de oxido nítrico disminuyeron en el grupo placebo, pero en el grupo de citrulina fue mayor con una  $p < 0.0001$

Los productos finales de glicación se encuentran disminuidos en el grupo de citrulina respecto a los del grupo placebo con una  $p < 0.01$

El siguiente gráfico de cajas representa la distribución de la IL-8 y el oxido nítrico en ambos grupos al ingreso y a los 7 días de la intervención.

**Figura 6. Valores séricos de interleucinas en pacientes con sepsis con y sin citrulina**

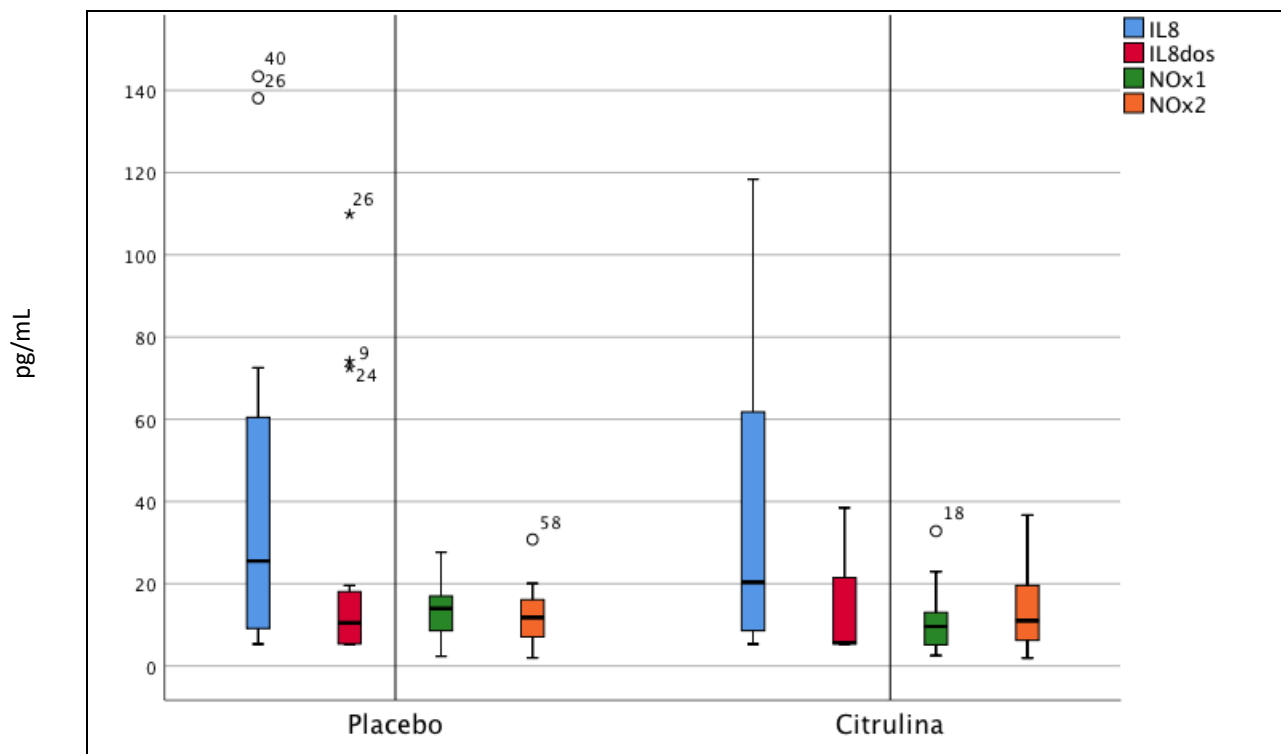


Gráfico de cajas

IL-8 = ingreso

IL-8 dos = a los siete días

Nox1= oxido nítrico ingreso

Nox2= oxido nítrico a los siete días

En la siguiente tabla se observa que los pacientes del grupo citrulina a su ingreso tenían un SOFA mayor que el grupo placebo, al medir la misma escala a los siete días el puntaje disminuyó más en el grupo donde se dio el suplemento con una  $p < 0.001$ .

**Tabla 12. Evolución de acuerdo a la escala SOFA**

Escala	Placebo			Citrulina			p
	Mediana	p25	p75	Mediana	p25	p75	
SOFA ingreso	4	3	6	8	5	10	0.001
SOFA 7 días	2	2	4	4	2	8	

Prueba de Wilcoxon.

La significancia estadística fue considerada con un valor de  $p < 0.05$ .

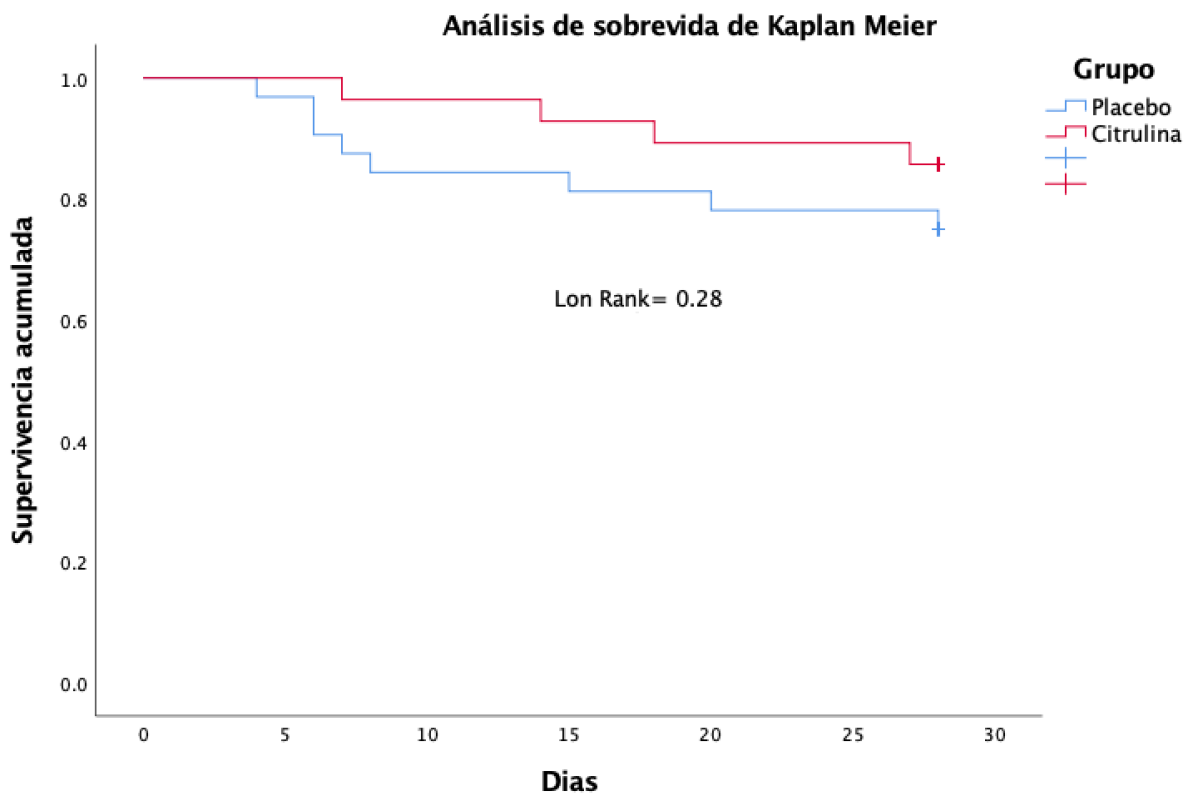


**Tabla 13. Descenlaces en el grupo de citrulina y placebo a los siete días.**

Evolución	Citrulina (%)	Placebo (%)	Valor de p
AKIN I	2(7.14)	8( 25)	0.02
AKIN II	3(10.7)	5( 15.62)	0.02
Muerte	4( 14.2)	8 (25)	0.24

Uno de los órganos afectados en la sepsis es el riñón hasta en un 50% de los casos, el grupo de citrulina desarrollo una lesión renal aguda menor que el que recibió placebo como se puede observar en la tabla previa con una  $p < 0.02$ .

**Figura 7.** Gráfico de supervivencia de Kaplan Meier en sujetos con suplementación con citrulina y con placebo.



No hay diferencia en ambos grupos respecto a la sobrevivencia a los 28 días y esto es debido al tamaño de la muestra estudiada.

### **XIII. DISCUSIÓN**

Este trabajo es uno de los primeros estudios donde se utilizó la suplementación de citrulina en pacientes con sepsis como parte de la terapia basada en la inmunonutrición, con evidencia científica apoyada en el mecanismo de acción de este aminoácido en modelos murinos y en algunos estudios realizados en humanos para otras patologías no infecciosas. El número de individuos estudiados fue mayor comparado con el resto de los estudios reportados hasta el momento.

Se registro este ensayo clínico en el portal de Clinical Trials con número NCT02370030 como parte de la responsabilidad de la actividad de investigación clínica y para que los resultados obtenidos sean utilizados en un futuro para próximos trabajos.

Los criterios de inclusión fueron muy específicos, el hospital donde se llevo a cabo este ensayo clínico es un centro de referencia nacional y corresponde a un Tercer Nivel de Atención, una de las limitantes para tener una muestra suficiente fueron las múltiples comorbilidades que tenían los posibles sujetos de estudio como la diabetes mellitus, hipertensión arterial, enfermedad renal crónica entre otras en estadios avanzados.

Han pasado 28 años desde la primera Conferencia Internacional de Definiciones en Sepsis y cuatro años de la ultima versión de la Campaña Sobreviviendo a la Sepsis, con una adaptación en marzo del 2020 secundaria a la pandemia por el virus SARS CoV-2.

Pese a los intentos por tener un diagnóstico oportuno en nuestro país como lo menciona Rizo y Alonso no se aplican los criterios consensuados en la valoración de los pacientes con el diagnóstico de sepsis por lo tanto no se reporta en las estadísticas hospitalarias y mucho menos en las actas de defunción, es indispensable que esta patología se considere como padecimiento de notificación obligatoria, de la implementación de un sistema de información que asegure por lo tanto un adecuado registro para conocer la incidencia y mortalidad real en la población mexicana. (75)

Los procesos de transición demográfica y epidemiológica: mayor número de personas de la tercera edad, con esperanza de vida crecientes, pero con mayor probabilidad de padecer enfermedades crónicas, malnutrición, pobreza, falta de accesos a los servicios de salud y retraso en el tratamiento oportuno de las patologías crónicas son factores externos pero que ensombrecen el pronóstico en pacientes con sepsis.

Al analizarse por genero se observa una ligera prevalencia de casos en las mujeres (55%) respecto con los hombres (45%) datos comparables con lo reportado por Rizo y Alonso en un 51% y 49% respectivamente.

El origen de las infecciones que progresan a sepsis en primer lugar son las vías respiratorias, las urinarias y las abdominales principalmente sin embargo en nuestro estudio descartamos las infecciones de vías urinarias por ser un factor confusor en la medición de la microalbuminuria y no incluimos pacientes con patología abdominal ya que para poder administrar la citrulina requeríamos tener el tracto intestinal integro.

En un estudio realizado por León Gutiérrez y cols. las tres principales infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) en la UCI de un Hospital de Tercer Nivel fueron la neumonía asociada al ventilador (NAV), las infecciones de vías urinarias asociado a catéter urinario (IVU-CU) y las infecciones del torrente sanguíneo (ITS), la población que nosotros estudiamos no fue exclusiva de una UCI por lo tanto los focos infecciosos que originaron la sepsis son diferentes. (76)

La escala de APACHE y SOFA son los principales modelos de predicción para evaluar la severidad en los pacientes críticos, son accesibles ayudan a predecir la mortalidad en UCI y en el hospital, es una herramienta clínica útil y de gran valor, los pacientes del grupo que recibieron citrulina tenían un puntaje de APACHE II de 19 puntos y de SOFA de 8 respecto al grupo placebo que fue de 13.50 y 4 puntos, ambos con una  $p=0.004$  y  $p=0.003$  respectivamente, aún cuando se realizó una aleatorización, los pacientes más graves pertenecieron al grupo de citrulina.

La citrulina y la proteína ligadora de ácidos grasos intestinales (I-FABP) en plasma se han propuesto como marcadores funcionales de la masa del enterocito, Piton y cols. midieron los niveles de citrulina en pacientes que se encontraban en la UCI y mostro que las siguientes variables están asociadas independientemente con la mortalidad a los 28 días: escala de SOFA  $> 12$ , OR, 4.39 (1.48-13.03), niveles de citrulina en plasma  $< 12.2$   $\mu\text{mol/L}$ , OR, 5.17 (1.59-16.86) y medición en plasma de la (I-FABP)  $> 355$   $\text{pg/ml}$ , OR, 4.46 (1.35-14.74), propone por lo tanto que en los pacientes críticos el daño de los enterocitos se asocia a choque séptico y muerte a los 28 días, se requiere aun de mayores estudios. (42-44).

La población estudiada fue de todo el hospital y no exclusiva de la UCI, en el grupo de pacientes a quienes se les suplemento con citrulina hubo una mejoría en la escala de SOFA a los siete días de haberse dado el aminoácido con una  $p < 0.001$  comparado con el placebo (tabla 12), asegurar que el restaurar los niveles de citrulina en plasma condicione a una mejoría en esta escala no se puede hacer, ya que una limitante en nuestro estudio fue no haber medido las concentraciones de citrulina plasmática antes y después de la intervención, se busco apoyo institucional y extra institucional pero no fue posible obtenerlo ya que estos estudios no se realizaban en esos momentos en nuestro país. Los resultados obtenidos dan pauta a efectuar estudios en pacientes críticos y medir niveles de citrulina e IFABP con la suplementación de este aminoácido.

En la mitad de los sujetos estudiados el foco infeccioso fue pulmonar (neumonía), pero no hubo diferencias en los grupos, respecto a los parámetros ventilatorios como el índice de oxigenación ( $PaO_2/FiO_2$ ), el PEEP o los días de intubación orotraqueal en aquellos que requirieron de apoyo mecánico ventilatorio.

El único estudio reportado hasta el momento donde hubo asociación entre niveles bajos de citrulina en plasma de 6 uM (3.3-10.4) y el desarrollo del síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA) en pacientes con sepsis severa es el de Ware y cols. comparado con aquellos que no presentaron SIRA y cuyos niveles de citrulina plasmática fueron de 10.1 uM (6.2-16.6), el nivel de citrulina considerada por este autor como normal fue de 9.2 uM (5.2-14.4) y expone que se requieren de más estudios para demostrar si la suplementación de citrulina previene el desarrollo del SIRA.

Respecto a los marcadores bioquímicos el grupo de pacientes que recibieron citrulina tuvo un mejor control glucémico con una  $p=0.001$ , los resultados se pueden comparar con el único ensayo clínico doble ciego efectuado en 54 pacientes con DM2 realizado por Azizi y cols, la mitad de los pacientes recibieron 3 gr de citrulina y se observó en ellos que los niveles de glucosa en ayuno eran más bajos (77).

Este mismo autor realizó una revisión sistemática respecto al rol de la citrulina y el extracto de sandía en las variables metabólicas e inflamatorias, incluyó ocho estudios, uno de ellos fue *in vitro* y el resto en modelos murinos para explicar el mecanismo de acción de la citrulina sobre las concentraciones de glucosa.

Concluye que el dar citrulina conduce a una mayor disponibilidad de arginina para la síntesis de NO, este metabolito secretado en el endotelio comienza con la cascada de señalización que incluye la activación del guanilato ciclasa soluble para mejorar la producción de GMPc (monofosfato cíclico de guanosina), los niveles elevados del GMPc relajan los músculos de las arterias, disminuye la resistencia y promueve la vasodilatación. El tener una menor disponibilidad de NO tanto directa como indirectamente afecta el metabolismo del músculo esquelético lo que podría contribuir al desarrollo de resistencia a la insulina.

Se cree que la citrulina puede afectar la sensibilidad de la insulina mediante la activación del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1) y la inhibición de fosforilación de la serina 1101, cuando la insulina se une a sus receptores, la tirosina en el IRS se fosforila lo que lleva a la activación de la fosfoinositido 3 kinasa (PI3K) y posteriormente a la fosforilación de Akt, que es un factor en la vía de señalización de la insulina y la regulación del metabolismo de la glucosa, de modo que la citrulina mejora la fosforilación de Akt inducida por la insulina y aumenta la fosforilación de tirosina en IRS en la parte superior de Akt. (78)

Los productos finales de la glicación avanzada (AGEs) son un grupo heterogéneo de moléculas generadas por medio de reacciones no enzimáticas de glicación y de oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, se detecta en los pacientes con diabetes mellitus (DM), median sus efectos a través de tres mecanismos principales: 1) entrecruzamiento con proteínas de la matriz extracelular, afectando las propiedades mecánicas de los tejidos, 2) entrecruzamiento con proteínas intracelulares alterando sus funciones fisiológicas y 3) unión a sus receptores de superficie para inducir múltiples cascadas de señales intracelulares.

Procesos agudos como las infecciones, infartos agudos de miocardio, accidentes vasculares cerebrales entre otros, generan estrés y la hiperglucemia se asocia a todos estos eventos, el 70% de los sujetos incluidos en este trabajo negaron tener DM2, el 88% de los pacientes con DM2 tuvieron hemoglobina glucosilada (HbA1c) > a 6.5% lo que habla del pobre control metabólico por lo menos 3 meses atrás, el 10% de la población estudiada no se conocía con DM2 sin embargo sus niveles de HbA1c fueron > 6.5% .

Se ha sugerido que los compuestos antioxidantes como la citrulina pueden ser capaces de disminuir la producción de estos AGEs que se encuentran presentes no solo en la diabetes mellitus sino también en procesos inflamatorios, nuestro estudio corrobora este supuesto ya que el grupo que recibió citrulina disminuyó considerablemente los AGEs con una  $p= 0.01$  en comparación con el grupo placebo, sería el primer estudio en apoyar esta teoría y puede ser también otra oportunidad para estudiar en un futuro el uso de citrulina en el manejo de los pacientes con hiperglucemia y diabetes mellitus (78).

Los pacientes con sepsis dependiendo del estadio en el cual se encuentran desarrollan hasta en un 60% insuficiencia renal aguda por lo que los biomarcadores de daño a nivel renal se han estudiado en este grupo con el objetivo de detectarse de manera temprano y evitar las terapias de sustitución renal que conllevan a insuficiencia renal crónica.

El grupo que recibió la suplementación con el aminoácido tuvo mejores niveles de urea a los 7 días en comparación con el grupo placebo con una  $p=0.05$ , de manera aislada este dato no es suficiente para concluir que hay mejoría renal, pero es un parámetro bioquímico a tomarse en consideración.

La microalbuminuria se ha propuesto como pronóstico en pacientes con infarto agudo del miocardio, preeclampsia y como predictor de desarrollo de lesión renal aguda en pacientes sépticos, se asocia al daño endotelial, es un marcador fácil de medir, refleja el daño micro y macrovascular en las primeras 6 horas de inicio de la sepsis, aumenta la permeabilidad del endotelio renal alterando el glucocalix a las 15 horas con pérdida de la arquitectura del glomérulo la albumina escapa durante el filtrado glomerular y por lo tanto hay un incremento en la excreción de albumina urinaria, este daño sobre los capilares fenestrados del glomérulo aumenta aun mas la inflamación (14,15,72,79). En nuestro estudio no encontramos diferencia

entre grupos de estudio probablemente por el tipo de pacientes, no todos eran críticos aunado al tamaño de la muestra.

La medición del índice ACR (*albumina urinaria/creatinina urinaria*), sirve como un marcador pronóstico en pacientes críticamente enfermos, en sepsis y en preclamsia, es una accesible, rápida y sencilla.

Tayeh y cols, proponen que la medición del ACR urinario puede ser usado para pronóstico y predictor de mortalidad en sepsis, propone que una medición de ACR de 110.5 mg/d tomada a las 24 horas de haber ingresado un paciente a la UCI tiene una sensibilidad de 100% y una especificidad de 86.2% para predecir la muerte (80).

Los pacientes que recibieron citrulina tenían una mediana de ACR basal de 96.55 (47.35-164.2) comparado con el grupo placebo con una mediana de ACR de 44.69 (29.62-113.19), a los siete días de haber dado la citrulina el ACR en el grupo de citrulina fue de 29.5 (15.01-69.5) y en el grupo placebo de 52.94 (26.29-140.18), con una  $p=0.0001$ . No hay en este momento estudio alguno donde el suplementar citrulina mejore el ACR.

Romero y cols estudiaron el efecto de la citrulina a nivel renal en las ratas con DM1, encontraron que la excreción urinaria de albúmina, la fibrosis túbulo-intersticial y la hipertrofia renal disminuyeron en aquel grupo a quienes se les dio el aminoácido, las concentraciones de Arginina tubular II a las 16 semanas de haber iniciado el tratamiento se restauraron, de la misma manera que las especies de oxido nítrico. La función de barrera de las células endoteliales glomerulares humanas expuestas a cantidades de glucosa elevadas fueron protegidas por este aminoácido (74).

Los pacientes del presente estudio tuvieron menor desarrollo de lesión renal aguda de acuerdo a la clasificación de AKIN con una  $p=0.02$ . No hay estudio alguno en humanos respecto al posible efecto nefroprotector de la citrulina.

Como parte del funcionamiento renal la depuración de creatinina de 24 horas es un estudio útil y accesible, se midió al ingreso de los pacientes y en el grupo de citrulina se obtuvo una depuración de 60 ml/min (44-122) comparada con el grupo placebo de 91ml/min (70-122) se realizó una nueva determinación a los siete días posterior a la administración de citrulina donde hubo mejoría en la medición de la depuración de creatinina de 24 horas con una mediana de 90 ml/min (57-110) y con un  $p=0.001$ , se necesita realizar mas estudios en un futuro para apoyar este dato.

No hubo aumento en los niveles de IL-10 en el grupo suplementado con citrulina respecto al placebo, Romero refiere en estudios in vitro y en modelos murinos que el dar citrulina eleva las citocinas antiinflamatorias como la IL-10, de manera selectiva esto induce a la expresión

de Arginina II en los macrófagos y atenúa la expresión de citocinas proinflamatorias con reducción en la generación de IL-1 $\beta$  e IL-12 (p70). (74)

Otros autores como Asgeirsson indujeron sepsis en modelos murinos a través de una ligadura cecal, al grupo que se le dio suplemento con citrulina tuvo niveles de IL-6 bajas, sin encontrar diferencias en las IL-8 o en la IL-10, sin embargo, los niveles de arginina en plasmas fueron mas elevados en el grupo que recibió del aminoácido (51).

Creen midió los niveles de citrulina, arginina y glutamina en pacientes con choque séptico, pero no encontraron correlación alguna de estos aminoácidos con albumina, transferrina, FNTa, IL-10 (34), la citosina proinflamatoria TNFa contribuye a la resistencia a la insulina y limita la fosforilización de IRS-1 en los residuos de Tyr lo que aumenta el riesgo en los pacientes con diabetes tipo 2 y obesidad (77), al medir TNF-a en nuestros grupos de estudio no se encontró diferencia.

En nuestro estudio los niveles de IL-6 y la IL-8 fueron disminuyeron en ambos grupos, el uso de las interleucinas en los pacientes con sepsis es limitadas dado la misma fisiopatología de la enfermedad por lo que se encuentra aun en busca de la molécula que pueda ayudar al clínico a tener un biomarcador en este tipo de pacientes.

Los niveles de NO en el grupo de citrulina fueron mayores con una  $p < 0.0001$ , al igual que lo reportado por Wijnads, en su estudio de modelos murinos con sepsis y suplementados con citrulina, la hipótesis es que la citrulina durante la endotoxemia aumenta las concentraciones plasmáticas y tisulares de arginina y citrulina, que conlleva a una mejoría en la producción intracelular de NO en el intestino y por lo tanto hay mejoría en la microcirculación (50).

El análisis de Kaplan-Meir no encontró diferencia entre el grupo que recibió el suplemento y el grupo placebo, probablemente por el tamaño de muestra.

No se presento ningún reacción adversa o efecto secundario en los pacientes que recibieron citrulina lo que la hace una molécula segura.

#### **XIV. CONCLUSIONES**

Este trabajo fue planteado como un piloto, al no contar en la literatura estudio alguno donde se suplemente citrulina en pacientes con sepsis lo que origina áreas de oportunidad para continuar con futuros estudios.

Se requieren más estudios para proponer a la citrulina como un inmunonutriente por el mecanismo de acción que se ha evidenciado in vitro, en modelos murinos y en este trabajo, considerar por lo tanto pueda ser útil como parte del manejo integral de los pacientes con sepsis.

El grupo que recibió citrulina tuvo un mejor control glucémico al concluir el tratamiento respecto con el grupo placebo con una  $p=0.001$  y se evidencio que los AGEs también disminuyeron con una  $p=0.01$ , es el primer estudio donde se evidencia la disminución de este ultimo metabolito, lo que abre las puertas para continuar con el estudio de este aminoácido.

El órgano blanco de la citrulina en el presente estudio fue el riñón, mejora los niveles de urea  $p=0.05$ , la depuración de creatinina  $p=0.001$ , el ACR con una  $p=0.0001$ , este índice se propone como una herramienta útil, barata, no invasiva, fácil de interpretar y que se puede realizar a la cabecera del paciente de manera casi inmediata, la lesión renal aguda fue menor en comparación con el grupo placebo con una  $p=0.02$ .

La IL-6 y la IL-8 disminuyeron, los niveles de NO fueron más elevados en el grupo de citrulina con una  $p<0.0001$  similar a los modelos murinos lo que sugiere por el mecanismo de acción conocido puede mejorar la microcirculación endotelial.

No hubo diferencias respecto a la mortalidad a 28 días.

Una de la limitación de nuestro estudio fue que no se midieron los niveles de citrulina en plasma antes y después de la intervención, así como la selección estricta de los pacientes lo que limitaba el ingreso al estudio.

Este estudio abre la oportunidad para que estudios futuros consideren a este aminoácido no solo en el campo de la sepsis si no en la DM2, HAS, preeclampsia, anemia de células falciformes, SIRA, hipertensión pulmonar, insuficiencia renal aguda entre otras.



## XV. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

ACTIVIDAD.	PRIMER SEMESTRE			SEGUNDO SEMESTRE			TERCER SEMESTRE			CUARTO SEMESTRE		
	Marzo Abril 2013	May Junio 2013	Julio Agos 2013	Sep Octu 2013	Nov Dic 2013	Eneo Feb 2014	Mar Abr 2014	May Juni 2014	Julio Ago 2014	Sep Octu 2014	Nov Dic 2014	Ene Febr 2015
<b>Revisión de la literatura/ modificaciones del protocolo.</b>												
<b>Solicitud para la aprobación de la Comisión Nacional de Investigación IMSS</b>												
<b>Reclutamiento de pacientes</b>												
<b>Toma de muestras y procesamientos de las mismas</b>												
<b>Procesamiento de datos y análisis estadísticos</b>												
<b>Análisis de resultados</b>												
<b>Conclusiones</b>												
<b>Elaboración de tesis de maestría</b>												
<b>Presentación final del proyecto.</b>												

## XVI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. O'Brien J, Ali N, Aberegg S, Abraham E. Sepsis. *JAMA*. 2007; **120**: 1012-22.
2. Gupta S, Jonas M. Sepsis, septic shock and multiple organ failure. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*. 2006; **7**: 143-146.
3. Carrillo ER, Carrillo CR, Carrillo CL. Estudio epidemiológico de la sepsis en unidades de terapia intensiva mexicanas. *Cir Ciruj*. 2009; **77**:301-308.
4. Levy M, Finck M, Marshall J, Bion J, Parker M, Jaeschke R, et al. 2001. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. *Crit Care Med*. 2005; **33**:1708-1716.
5. Dellinger P, Levy M, Carlet J, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med*. 2008; **36**:296-320.
6. Dellinger P, Levy M, Rodes A, Annane D, Gerlach H, Opal S, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013; **41**:580-637.
7. Gustot T. Multiple organ failure in sepsis: prognosis and role of systemic inflammatory response. *Curr Opin Crit Care*. 2011; **17**:153-159
8. Angus D, Van der Poll. Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med*. 2013; **369**:840-51.
9. Hotchkiss R, Karl I. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *N Engl J Med*. 2003; **348**:138-150.
10. Kotsovolis G, Kallaras K. The role of endothelium and endogenous vasoactive substances in sepsis. *Hippokratia*. 2010; **14**: 88-93.
11. Ait-Oufella H, Maury E, Lehoux S, Guidet B, Offenstadt G. The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis. *Intensive Care Med*. 2010; **36**:1286-1298.
12. Marshall J, Reinhart K. Biomarkers of sepsis. *Crit Care Med*. 2009; **37**:2290-8.
13. Singh S, Evans T. Organ dysfunction during sepsis. *Intensive Care Med*. 2006; **32**:349-360
14. Paulus P, Jennewein C, Zacharowski K. Biomarkers of endothelial dysfunction: can they help us deciphering systemic inflammation and sepsis? *Biomarkers*. 2011; **16**:11-21.
15. Aldamiz EL, Andrade F. Asymmetric Dimethylarginine, Endothelial Dysfunction and Renal Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2012;**13**: 11288-11311.
16. Grion C, Cardoso L, Carrilho C, et al. Microalbuminuria evaluated as a biomarker in patients with septic shock. *Critical Care*. 2010;**14** (Suppl 1): P30.
17. Skibsted S, Jones AE, Puskarich M, Arnold R, Sherwin R, Trzeciak S, et al. Biomarkers of endothelial cell activation in early sepsis. *SHOCK* 2013;**39**: 427-432.
18. Hollenberg S, Cinel I. Bench-to-bedside review: Nitric oxide in critical illness – update 2008. *Critical Care* 2009; **13**:218:1-9.
19. Kao C, Bandi V, Guntupalli K, Wu M, Castillo L, Jahoor F. Arginine, citrulline and nitric oxide metabolism in sepsis. *Clinic Science*. 2009; **117**: 23-30.

20. Villalpando S, Gopal J, Balasubramanyam A, Bandi, V, Guntupalli K, Jahoor F. In vivo arginine production and intravascular nitric oxide synthesis in hypotensive sepsis. *Am J Clin Nutr.* 2006; **84**:197-203.
21. Bertolini G, Lapichino G, Radrizzani D, Facchini R, Simini B, Bruzzone P, et al. Early enteral immunonutrition in patients with severe sepsis: results of an interim analysis of a randomized multicentre clinical trial. *Intensive Care Med.* 2003; **29**:834-840.
22. Ortiz LC, Garnacho MJ, Domínguez AC. Sepsis, mortality, and parenteral nutrition: the risk of dualism on nutritional. *Crit Care Med.* 2009; **37**:1179-1780.
23. Blaser RA, Malbrain M, Starkopf J, Fruhwald S, Jakob S, De Waele J, et al. Gastrointestinal function in intensive care patients: terminology, definitions and management. Recommendations of the ESICM Working Group on Abdominal Problems. *Intensive Care Med.* 2012; **38**:384-394.
24. Heyland DK, Novak F, Drover J, Jain M, Su X, Suchner U. Should immunonutrition become routine in critically ill patients; a systematic review of the evidence. *JAMA.* 2001; **286**:944-53.
25. Montejo JC, Zaragaza A, López MJ, Urrutia G, Roque M, Blesa A, et al. Immunonutrition in the intensive care. A systematic review and consensus statement. *Clin Nutr.* 2003; **22**:221-223.
26. Marik PE, Zaloga GP. Immunonutrition in critically ill patients: a systematic review and analysis of the literature. *Intensive Care Med.* 2008; **34**:1980-90.
27. Orozco J, Castillo L, Orea TA, Vázquez DO, Valdespino TA, Narvaez R, et al. Effect of L-arginine or L-citrulline oral supplementation on blood pressure and right ventricular function in heart failure patients with preserved ejection fraction. *Cardiol J.* 2010; **17**: 612–618.
28. Rougé C, Des Robert C, Robins A, Le Bacquer O, Volteau C, De la Cochetie' re MF, et al. Manipulation of citrulline availability in human. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007; **293**:1061-1067.
29. Zhou M, Martindale R. Arginine in the Critical Care Setting. *J Nutr.* 2007;**137** (suppl):1687–1692.
30. Schwedhelm E, Maas R, Freese R, Jung D, Lukacs Z, Jambrecina A, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine: impact on nitric oxide metabolism. *J Clin Pharmacol.* 2007; **65**: 51–59.
31. Van Waardenburg DA, de Betue C, Luiking YC, Engel M, Deutz NE. Plasma arginine and citrulline concentrations in critically ill children: strong relation with inflammation. *Am J Clin Nutr.* 2007; **86**:1438–44.
32. Otto G, Neugebauer S, Claus R, Soosdorf M. Arginine metabolism is markedly impaired in polymicrobial infected mice. *Critical Care.* 2012;**16**: 412
33. Lorente JA, Landin L, De Pablo R, Renes E, Liste D. L-arginine pathway in the sepsis syndrome. *Crit Care Med.* 1993; **21**:1287-95
34. Bahri S, Zerrouk N, Aussel C, Moinard C, Creen P, Curis E, et al. Citrulline: From metabolism to therapeutic use. *Nutrition.* 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut2012.07.002>
35. Collins JK, Wu G, Perkins VP, Spears K, Claypool PL, Baker RA, et al. Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutrition* 2007; **23**:261–6.
36. Moinard C, Nicolis I, Neveux N, Darquy, Bénazeth, Cynober L. Dose- ranging

- effects of citrulline administration on plasma amino acids and hormonal patterns in healthy subjects: the Citrudose pharmacokinetic study. *Br J Nutr*. 2008; **99**:855–62.
37. Kameda N, Okigawa T, Kimura T, Fujibayashi M, Asada T, Kinoshita R, et al. The effect of L-citrulline on ECG QT interval and autonomic nervous system activity. *J Physiol Anthropol*. 2011. **30**:41-45.
  38. Waugh WH, Daeschner CW, Files BA, McConnell ME, Strandjord SE. Oral citrulline as arginine precursor may be beneficial in sickle cell disease: early phase two results. *J Natl Med Assoc* 2001; **93**:363–71.
  39. Smith HA, Canter JA, Christian KG, Drinkwater DC, Scholl FG, Christman BW, et al. Nitric oxide precursors and congenital heart surgery: A randomized controlled trial of oral citrulline. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006; **132**:58-65
  40. Barr F, Tirona R, Taylor M, Rice G, Arnold J, Cunningham G, et al. Pharmacokinetics and safety of intravenously administered citrulline in children undergoing congenital heart surgery: Potential therapy for postoperative pulmonary hypertension. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;**134**:319-26
  41. Ortiz L, Montejo, Vaquerizo A. Recomendaciones para el soporte nutricional y metabólico especializado del paciente crítico. Actualización. Consenso SEMICYUC-SENPE: Paciente séptico. *Med Intensiva*. 2011;**35**(Supl 1):72-76
  42. Crenn P, Messing B, Cynober L. Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clinical Nutrition* 2008; **27**, 328-339.
  43. Piton G, Manzon C, Monnet E, Cypriani B, Barbot O, Navellou JC, et al. Plasma citrulline kinetics and prognostic value in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2010; **36**:702–706
  44. Piton G, Belon F, Cypriani B, Regnard J, Puyraveau M, Manzon C, et al. Enterocyte damage in critically ill patients is associated with shock condition and 28-day mortality. *Crit Care Med* 2013;**4**: 1-8.
  45. Mandel H, Levy N, Izkovitch S, Korman SH. Elevated plasma citrulline and arginine due to consumption of *Citrullus vulgaris* (watermelon). *J Inher Metab Dis* 2005;**28**:467–72.
  46. Luiking Y, Poeze M, Ramsay G, Deutz N. Reduced citrulline production in sepsis is related to diminished de novo arginine and nitric oxide production. *Am J Clin Nutr* 2009;**89**:142–52.
  47. Kao C, Hsu J, Bandi V, Jahoor F. Alterations in glutamine metabolism and its conversion to citrulline in sepsis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; **304**: 1359–1364.
  48. Grimaldi D, Guivarch E, Neveux N, Fichet J, Pene F, Marx S. Markers of intestinal injury are associated with endotoxemia in successfully resuscitated patients. *Resuscitation* 2013;**84** :60– 65.
  49. Hol J, Van Lir F, Valk M, Klimek M, Stolker R, Fekkes D. Effect of major and minor surgery on plasma levels of arginine, citrulline, nitric oxide metabolites and ornithine in humans. *Ann Surg* 2013;**00**: 1–7.
  50. Wijnands K, Vink H, Briedé J, Van Faassen E, Lamers W, Buurman W, et al. Citrulline a more suitable substrate than arginine to restore NO production and the microcirculation during endotoxemia. *PloS One*. 2012;**7**:e37439.
  51. Asgeirsson T, Zhang S, Nunoo R, Mascarenas C, Dujovny N, Luchtefeld M, et al. Citrulline: A potential immunomodulator in sepsis. *Surgery* 2011;**150**:744-51.
  52. Andrade M, Nicoli J, Dos Santos F, Nogueira JA, Esteves R, Pacifico I, et al.

- Pretreatment With Citrulline Improves Gut Barrier After Intestinal Obstruction in Mice. *J Parenter Enteral Nutr.* 2012;**36**:69-76
53. Osowska S, Neveux N, Nakib S, Lasserre V, Cynober L, Moinard C, et al. Impairment of arginine metabolism in rats after massive intestinal resection: effect of parenteral nutrition supplemented with citrulline compared with arginine. *Clinical Science* 2008; **115**: 159–166.
  54. Yi L, Lingshan G, Cui Y, Xiaoxing Y, Junnian Zheng. A preliminary study on protective effect of L-citrulline against ischemia-reperfusion induced gastric mucosal lesions in rat. *Indian Journal of Pharmacology* 2012 ;**44**:31-35.
  55. Ware LB, Magarik JA, Wickersham N, Cunningham G, Rice T, Christman B, et al. Low plasma citrulline levels are associated with acute respiratory distress syndrome in patients with severe sepsis. *Crit Care* 2013;**17**:R10.
  56. Cynober L. Citrulline: just a biomarker or a conditionally essential amino acid and a pharmacconutrient in critically ill patients? *Crit Care* 2013;**17**:122.
  57. Keegan M, Gajic O, Afessa B, Bekele M. Severity of illness in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2011; **39**: 163-169
  58. Vincet JL. Yearbook of intensive care and emergency medicine. In:Moreno R, Metnitz P. Scoring systems and outcome.1<sup>st</sup> ed. Germany: Springer; 2005.pp.117-136.
  59. Afessa B, Gajic O, Keegan M. Severity of illness and organ failure assessment in adult intensive care units. *Crit Care Clin* 2007; **23**: 639-658.
  60. Abizanda R, Padron A, Vidal B, Mas S, Berenguer A, Madero J, et al. Estimación pronóstica en enfermos críticos. Validación de un nuevo y muy sencillo sistema de estimación pronóstica de supervivencia en pacientes ingresados en una unidad de cuidados intensivos. *Med Intensiva* 2006; **30**: 101-8.
  61. Lemonnier E, Landais P, Loirat P, Kleinknecht D, Brivet F. Evaluation of severity scoring systems in ICUs –translation, conversion and definition ambiguities as a source of inter-observer variability in APACHE II SAPS and OSF. *Intensive Care Med* 1995;**21**:356-360
  62. Knaus W, Zimmerman J, Wagner D, Draper EA, Lawrence DE. APACHE – Acute Physiology and Chronic Health Evaluation. A physiologically based classification system. *Crit Care Med* 1981; **9**: 591-597.
  63. Knaus W, Draper E, Wagner D, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; **13**: 818-829.
  64. Knaus WA, Wagner D, Draper E, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, et al. The APACHE III prognostic system: Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults. *Chest* 1991; **100**: 1619-1636.
  65. Zimmerman JE, Kramer A, McNair D, Malila FM. Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) IV: Hospital mortality assessment for today's critically ill patients. *Crit Care Med* 2006; **34**: 1297-1310
  66. Nathanson BH, Higgins T, Teres D, Copes WS, Kramer A, Stark M. A revised method to assess intensive care unit clinical performance resource utilization. *Crit Care Med* 2007; **35**: 1853-1862.
  67. Le Gall J, Loirat P, Alperovitch A, Glaser P, Granthil C, Mathieu D, et al. A Simplified Acute Physiology Score for ICU patients. *Crit Care Med* 1984; **12**: 975-977.

68. Thabane L, Ma J, Chu R, Cheng J, Ismaila A, Rios LP, et.al. A tutorial a pilot study: the what, why and how. *BMC Med Res Methodol* 2010,10:1
69. Florvall G, Basu S, Helmersson J, Larsson A. Hemocue urine albumin point-of-care test shows strong agreement with the results obtained with a large nephelometer. *Diabetes*. 2006;**29**: 422-423.
70. Gallardo JM. Evaluación del sistema antioxidante en el semen normal. *Rev Invest Clin* 2007;**59**:42-47.
71. Bankowski Z, Bruppacher R, Crusius I, et al. Reporting adverse drug reactions. Definitions of terms and criteria for their use.Switzerland: *CIOMS*; 1999.
72. Zhang Z, Lu B, Ni H, Sheng X, Jin N. Microalbuminuria can predict the development of acute kidney injury in critically ill septic patients *J Nephrol* 2013; **26**: 724- 730.
73. Basu S, Chaudhuri S, Bhattacharyya M t.al. Microalbuminuria: An inexpensive, non-invasive bedside toll to predict outcome in critically ill patients. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2010;**25**(2):146-152.
74. Romero MJ, Yao L Sridhar S, Bhatta A. I Citrulline Protects from Kidney Damage in Type 1 Diabetic Mice. *Front Immunol*.2013;**24**:4:480
75. Rizo Amézquita JN, Alonso Molina A. La sepsis como causas de egreso hospitalario en México una revisión retrospectiva 2008-2015.*Boletin CONAMED-OPS*.2018;3:**17**:1-11.
76. León Gutiérrez MA, García Peniche C, Loza Jalil S, Serrano Cuevas L, Romero Gutiérrez. Infecciones asociadas a la atención de la salud: tratamiento antibiótico empírico. *Rev Med Inst Mex Seguir Soc*.2017; **55**(4): S383-8.
77. Azizi S, Mameghani E, Mobasseri M, Karamzad N, Mandavi R. Oxidative stress and nitrate/nitrite (Nox) status following citrulline supplementation in type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Hum Nutr Diet*;2020.online.
78. Azizi S, Mahdavi R, Vaghef M, Maleki V, Karamzad N. Potential roles of Citrulline and watermelon extract on metabolic and inflammatory variables in diabetes mellitus, current evidence and future directions: A systematic review. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2020; **47**:187-198.
79. Serrano CL, Borrayo SG, Garcia MR, Madrid AM,Almeida GE.Valor pronóstico de la microalbuminuria en el pacientes con infarto agudo del miocardio con elevación del ST. *Rev Mex Car* 2015;**26**(1):28-33.
80. Tayeh O, Taema K, Eldesouky M, Omara A. Urinary albumin/creatinine ratio as an early predictor of outcome in critically-ill septic patients. *The Egyptian Journal of Critical Care Medicine*.2016; **4**: 47–55



**XVII. ANEXOS**  
**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y**  
**POLITICAS DE SALUD.**

**XVII.A. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN**  
**PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN (ADULTOS).**

**UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional SXXI**  
**“Dr. Bernardo Sepúlveda”**

México D.F. a \_\_\_\_\_

Se le hace una atenta invitación para que su familiar

participe en el proyecto de investigación titulado “Ensayo Clínico Controlado Aleatorizado del Efecto de la Citrulina sobre la Evolución Clínica y Bioquímica en Pacientes con Sepsis”, mismo que ya fue registrado ante el Comité Local de Investigación y Ética en investigación en Salud del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI “Dr. Bernardo Sepúlveda” con número de registro R-2013-3601-223.

La sepsis (infección grave), tiene un alto índice de muerte, se han buscado opciones para combatirla, la posibilidad de tener éxito es mayor si se van sumando diferentes intervenciones, el uso de la inmunonutrición (nutrientes que mejoran las defensas del paciente) es una de ellas. Este trabajo tiene como objetivo determinar si la administración de Citrulina (aminoácido) mejora las condiciones generales en los pacientes que presentan sepsis, se evaluarán a 50 pacientes, de los cuales 25 de ellos recibirán citrulina y el resto no lo tendrá (conocido como placebo), la decisión de que su familiar pertenezca al grupo donde se dará este suplemento será al azar, los médicos tratantes y los investigadores no sabrán a que grupo pertenece su familiar.

Todo paciente continuará con el manejo médico habitual, la única intervención es la suplementación de 10 gr de Citrulina cada 24 horas por siete días, esta será administrada vía oral o en su defecto por sonda nasogástrica o nasoyeyunal (tubo colocado en nariz o boca para alimentarlo), se tendrá un comité de eventos adversos que puede parar el estudio en caso de que se detecte alguna situación que afecte o ponga en riesgo la vida del paciente.

Antes de iniciar la administración de citrulina, se tomarán muestras de sangre de 10 ml (frasco rojo), para medición de citocinas (indicadores de la inflamación) y una muestra de orina de 5 ml, estas mismas muestras se realizarán a los 7 días de haber ingresado al estudio.

Las molestias durante la toma de muestras de sangre son mínimas, una de ellas puede ser ligero dolor en el sitio de punción.

Este suplemento se ha estudiado en recién nacidos, niños y mujeres embarazadas, **NO** se ha reportado ningún evento adverso o muerte por la administración de este aminoácido, sin embargo, el comité de eventos adversos estará vigilando y monitoreando cualquier alteración atribuida a la citrulina. En caso de que su familiar sufra alguna complicación por su participación en este estudio, recibirá el

tratamiento y seguimiento necesario en el IMSS, siendo atendido (a) por personal especializado.

Es probable que su familiar no reciba un beneficio directo por su participación, sin embargo, los resultados del estudio contribuirán al avance en el conocimiento de la inmunonutrición en sepsis.

El ingreso al estudio es voluntario, si decide no participar, el manejo y atención médica de su paciente continuará como hasta ahora. Si decide que su familiar participe y por algún motivo ya no desea continuar, puede solicitar se suspenda la administración de Citrulina en cualquier momento, lo anterior tampoco afectará el manejo médico habitual. La información y las muestras de sangre obtenidas estarán bajo estricta confidencialidad por el grupo de investigadores. Cuando hayan sido resueltas sus dudas, y se sienta seguro de la participación de su familiar, firme esta Carta de Consentimiento Informado.

Si tiene dudas o quejas sobre el estudio o quiere reportar un evento adverso de la administración de Citrulina contacte por favor a la Dra. Leonor Serrano Cuevas en un horario de 9:00 a.m a 18:00 p.m al Tel: 56276900 Ext: 21445, localizada en la Unidad de Cuidados Intensivos del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores, C.P 06725 México D.F en un horario de 9:00 a.m a las 16:00 p.m.

---

Nombre y firma del familiar responsable

---

Nombre y firma del testigo

---

Nombre y firma del testigo.

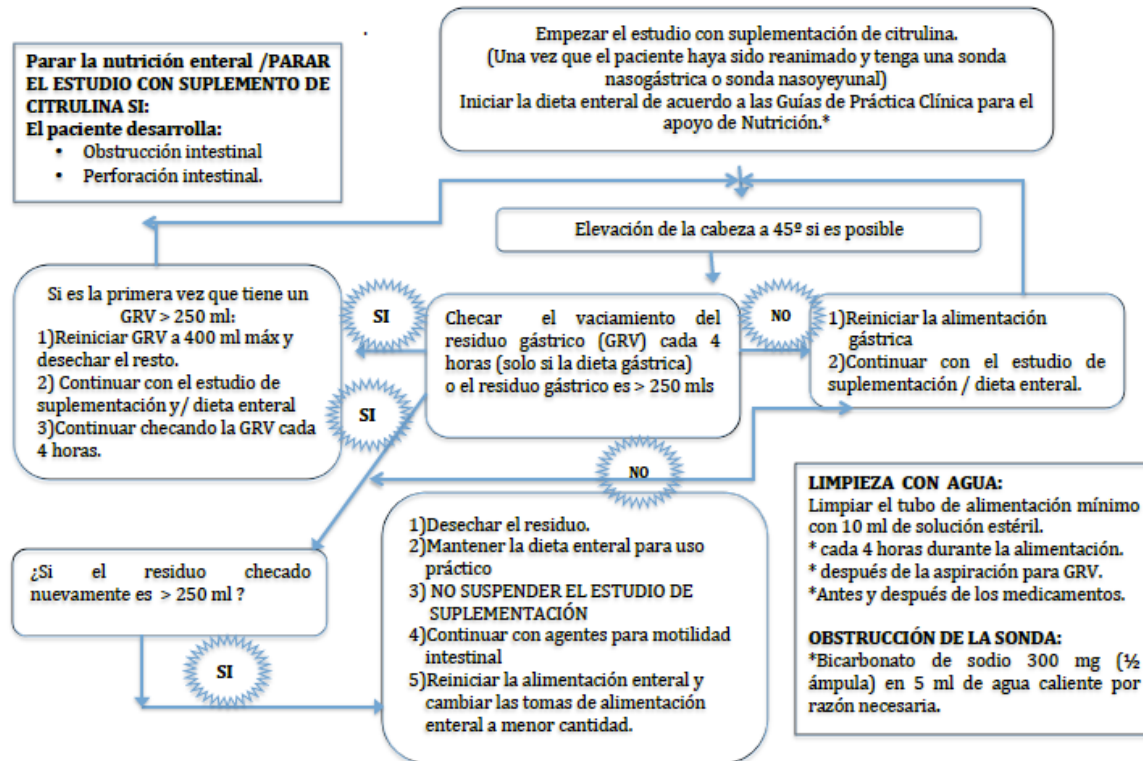
---

Nombre y firma del investigador

Este documento no deberá tener tachaduras o enmendaduras.



**ANEXO XVII.B.  
ALGORITMO DE NUTRICIÓN ENTERAL.**



\* Heyland et al. JPEN 27:355-357,2003.

**ANEXO XVII. C.**

**TABLA DE EVENTOS ADVERSOS SERIOS.**

<b>CATEGORIA POR CODIGO</b>	<b>CATEGORIA POR SUBCODIGO</b>	<b>CUALQUIER EVENTO DENTRO DE LA CATEGORÍA</b>	<b>GRUPO DE TRATAMIENTO</b>	
			<b>PLACEBO</b>	<b>CITRULINA (CIT)</b>
1. ENFERMEDADES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	Todos los eventos dentro de la clase			
	Encefalopatía			
	Hemorragia intracraneana			
	Crisis convulsivas			
	Accidentes vasculares cerebrales			
	Isquemia transitoria			
2. ENFERMEDADES RESPIRATORIAS	Todos los eventos dentro de la clase			
	Falla respiratorio.			
3. ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES	Todos los eventos dentro de la clase			
	Falla cardiaca aguda			
	Arresto cardiaco			
	Paro cardiorespiratorio			
	Pericarditis			
	Alteraciones del ritmo			
4. ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES	Todos los eventos dentro de la clase			
	Pancreatitis aguda			
	Gastritis erosiva			
	Hemorragia gastrointestinal			
	Íleo			
	Isquemia intestinal			
	Otros: enzimas pancreáticas altas			
5. ENFERMEDADES HEPATOBILIARES	Todos los eventos dentro de la clase			
	Colestasis			
6. ENFERMEDADES VASCULARES	Todos los eventos dentro de la clase			
	Enfermedad vascular periférica			
7. ENFERMEDADES OFTALMOLOGICAS	Todos los eventos dentro de la clase			
	Ceguera			
8. ENFERMEDADES URINARIAS	Todos los eventos dentro de la clase			
	Retención urinaria			

9.ENFERMEDADES HEMATOLÓGICAS	Todos los eventos dentro de la clase			
	Trombocitopenia			
	Alteraciones de la coagulación			
10.ENFERMEDADES METABOLICAS	Todos los eventos dentro de la clase			
	Hipocalcemia			
11.ENFERMEDADES DE LA PIEL	Todos los eventos dentro de la clase			
	Dermatitis			
	Urticaria			
12.ENFERMEDADES MUSCULO-ESQUELETICO	Todos los eventos dentro de la clase			
	Miositis			
OTROS.	Neoplasia (cualquiera de éstas) Datos de dependencia al fármaco.			
COMPLICACIONES DE LOS PROCEDIMIENTOS	Todos los eventos dentro de la clase			
	Embolismo del catéter central			
	Trombos internos			
	Inadecuada posición de tubos.			
TOTAL	Todos los eventos adversos serios			
PACIENTES CON AL MENOS UN EVENTO ADVERSO SERIO				

Bankowski Z, Bruppacher R, Crusius I. Reporting adverse drug reactions. Definitions of Terms and Criteria for their Use.Switzerland: *CIOMS*; 1999 (71).

**ANEXO XVII. D**  
**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DEL**  
**PACIENTE.**

**No. sujeto:** \_\_\_\_\_

1. Diagnóstico: \_\_\_\_\_

2. Fecha de ingreso: \_\_\_\_\_ 3. Fecha de egreso \_\_\_\_\_

4. Nombre: \_\_\_\_\_

5. Afiliación: \_\_\_\_\_ 6. Edad: \_\_\_\_\_ 7. Teléfono: \_\_\_\_\_

8. Peso \_\_\_\_\_ kg 9. Talla \_\_\_\_\_ 10. IMC \_\_\_\_\_ 11. P. abdominal \_\_\_\_\_

12. Sexo: femenino ( 1 ) masculino ( 2 )

13. Antecedentes heredofamiliares: Si ( 1 ) No ( 2 )

14. DM2 si (1) no (2) 14. HAS si (1) no (2) 15. Dislipidemia si (1)no (2) 16. Tabaquismo si(1)no (2)

15. Angor previo Si ( 1 ) No ( 2 )

16. IM previo si ( 1 ) No ( 2 )

17. ICC si ( 1 ) no ( 2 )

18. Revascularización previa si ( 1 ) no ( 2 )

19. TAS \_\_\_\_\_ TAD \_\_\_\_\_

20. Taller AV ingreso: E%(1) \_\_\_\_\_ Qs/Qt(2) \_\_\_\_\_ Sat ven 02%(3) \_\_\_\_\_ DAV \_\_\_\_\_

21. Taller AV egreso: E%(1) \_\_\_\_\_ Qs/Qt(2) \_\_\_\_\_ Sat ven 02% (3) \_\_\_\_\_ DAV \_\_\_\_\_

22. ESCALAS:

APACHE II	
SOFA /MODS/SAPS III	

24. Manejo					
				Días inicio	Retiro
	Esteroides	Si (1)	No(2)		
	Metilprednisolona	Si (1)	No(2)		
	Inmunoglobulina	Si (1)	No(2)		
	Vasopresina	Si (1)	No(2)		
	Norepinefrina	Si (1)	No(2)		
	Dopamina	Si (1)	No(2)		
	Dobutamina	Si (1)	No(2)		
	Furosemide	Si (1)	No(2)		
	HDFVVC	Si (1)	No(2)		
	Hemodialisis convencional	Si (1)	No(2)		

25. Glucosa 1 (80-110) 2 (110-150) 3 (150-250) 4 (>250) \_\_\_\_\_

<b>26. LABS</b>	
CPK	

DHL			
Troponina			
Mioglobina			
BNP			
Creatinina			
Acido úrico			
Albumina			
Triglicéridos			
Colesterol			
LDL			
HDL			
PCR			
Leucocitos totales			
Neutrofilos			
Lactato			
Sat venosa 0%.			
Fibrinogeno			
TP			
TPT			
Plaquetas			
Hb			
Hto			
Dimero D			
Cortisol			
	Ingreso	7 días	
IL 12 p 70			
TNF			
IL 1b			
IL 8			
IL-6			
IL 10			
NOx			
AGES			
Vitamina C			
Microalbuminuria	Ingreso	24 hr	7 días
Creatinina urinaria	Ingreso		7 días
Dep creatinina	Ingreso		7 dí

**ANEXO XVIIE.  
ESCALAS DE GRAVEDAD**

Escala APACHE II (Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation) (63).

A) Escala fisiológica aguda.

Variable	Puntos								
	4	3	2	1	0	1	2	3	4
Temperatura	≥41	39-40.9		38.5-38.9	36-38.4	34-35.9	32-33.9	30-31.9	≤29.9
Presión arterial media	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
Frecuencia cardiaca	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤39
Frecuencia respiratoria	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
A-aPO <sub>2</sub> (si FiO <sub>2</sub> >0.5)	≥500	350-499	200-349		< 200				
PaO <sub>2</sub> (si FiO <sub>2</sub> <0.5)					> 70	61-70		55-60	<55
pH arterial	≥7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.32	7.15-7.24	<7.15
<sup>1</sup> HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> sérico.	≥52	41-51.9		32-40.9	23-31.9		18-21.9	15-17.9	<15
Na <sup>+</sup> sérico.	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
K <sup>+</sup> sérico.	≥7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Creatinina sérica	≥3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hematocrito	≥60		50-59.9	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
Cuenta leucocitos	≥40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
Escala de coma de Glasgow (ECG) = 15 - ECG actual.									
<sup>1</sup> Utilizar sólo si no se cuenta con gases arteriales.									

B) Ajuste para edad.

Edad (años)	Puntos
<44	0
45-54	2
55-64	3
65-74	5
>75	6

C) Ajuste para enfermedades crónicas.

Si el paciente tiene historia de las siguientes condiciones se agregan 2 puntos:

- o Cirrosis hepática demostrada por biopsia.
- o Insuficiencia cardíaca (clase funcional IV de la New York Heart Association).
- o Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (hipercapnia, uso domiciliario de oxígeno, hipertensión pulmonar).
- o Diálisis crónica.
- o Inmunocompromiso.

Si el paciente es quirúrgico electivo o no quirúrgico, se agregan 2 puntos.

Si el paciente es quirúrgico de urgencia, se agregan 5 puntos.

A (    ) + B (    ) + C (    ) = \_\_\_\_\_ Calificación APACHE II

## ANEXO XVII.F.

### ESCALA SOFA (SEQUENTIAL ORGAN FAILURE ASSESSMENT)

Variable	Puntos				
	0	1	2	3	4
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (mmHg)	>400	400	300	200	100
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /μL)	>150	150	100	50	20
Bilirubinas (mg/dL)	<1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	>12
Hipotensión	Ningún fármaco	PAM <70 mmHg	Dopamina <5	Dopamina >5	Dopamina >15
				Dobutamina >5	Dobutamina >15
				Dopexamina >5	Dopexamina >15
				Epinefrina 0.1	Epinefrina >0.1
				Norepinefrina 0.1	Norepinefrina >0.1
					Vasopresina cualquier dosis
Escala de coma de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Creatinina (mg/dL)	<1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.9	>5
Dosis del fármaco en mcg/kg/min					

Se suman los puntos de cada uno de los sistemas evaluados y se obtiene la calificación SOFA.



## ANEXO XVII.G.

### ESCALA DE MODS (DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA).

Organo	0	1	2	3	4
Respiratorio <sup>a</sup> (PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> )	300	226-300	151-225	76-150	≤ 75
Renal <sup>b</sup> (Creatinina sérica)	≤ 100	101-200	201-350	351-500	> 500
Hepático <sup>c</sup> (Bilirrubina sérica)	≤ 20	21-60	61-120	121-240	> 240
Cardiovascular <sup>d</sup> (PAR)	≤ 10	10,1-15	15,1-20	20,1-30	> 30
Hematología <sup>e</sup> (Recuento de plaquetas)	> 120	81-120	51-80	21-50	≤ 20
Neurológico <sup>f</sup> (Escala de Glasgow)	15	13-14	10-12	7-9	≤ 6

#### PUNTAJE:

MODS 0	mortalidad: 0
MODS de 9 a 12:	mortalidad: 25%
MODS de 13 a 16:	mortalidad: 50%
MODS de 17 a 20:	mortalidad: 75%.
MODS > 20	mortalidad 100%

### ANEXO XVII.H. ESCALA SAPS III.

Parámetros		Resultados	Puntos.
Edad		≥60-<70	25
		≥70-<75	29
		≥75-<80	31
		≥80	34
Tiempo de ingreso antes de UCI		<14 días	16
		> 14 días	22
Ubicación previa a ingreso a UCI.		Quirófano	16
		Urgencias	21
		Otra UCI	23
		Otros.	24
Comorbilidades	Tratamiento antineoplásico	No	16
		Si	19
	Cáncer	No	16
		Si	27
	Cáncer hematológico	No	16
		Si	22
	Insuficiencia cardiaca NYHA IV	No	16
		Si	22
Cirrosis	No	16	
	Si	24	
VIH	No	16	
	Si	24	
Fármacos vasoactivos.	No	16	
	Si	19	
Ingreso a UCI		Prevista	16
		imprevista	19
Motivo de ingreso a UCI	Cardiovascular	Arritmias	11
		Otras	16
		Choque hipovolémico	19
		Choque séptico	21
		Choque anafiláctico	21
	Hepática	Otras	16
		Insuficiencia hepática	22
	Digestiva	Otras	16
		Abdomen agudo	19
		Pancreatitis grave	25
	Neurológica.	Convulsiones	12
		Otras	16
		Coma/delirio/agitación/confusión	20
Focalización neurológica		23	
Efecto de masa intracerebral		26	
Cirugía al ingreso en UCI		Programada	16
		No quirúrgico	21
Localización de cirugía		Transplante	5
		Trauma/politrauma	8
		cardíaca	10
		Otra	16
		Neurocirugía: EVC	21
Infeción aguda al	Nosocomial	No	16

ingreso en UCI		Si	20
	Respiratoria	No	16
Escala de coma de Glasgow		Si	20
		$\geq 13$	16
		12-7	18
		6	23
Bilirrubina total (mg/dL)		3-5	26
		$\leq 2$	16
		$>2$ y $< 6$	20
Temperatura corporal		$\geq 6$	21
		$\geq 35$	16
Creatinina ( mg/dL)		$\leq 35$	23
		1,2	16
		$\geq 1.2$ - $<2$	18
		$\geq 2$ y $< 3.5$	23
Frecuencia cardiaca		$\geq 3.5$	24
		$\leq 120$	16
		$\geq 120$ - $<160$	21
Leucocitos mm <sup>3</sup>		$\geq 160$	23
		$< 15000$	16
pH		$\geq 15000$	18
		$>7.25$	16
Plaquetas / mm <sup>3</sup>		$\leq 7.25$	19
		$\leq 20000$	29
		$>20000$ y $< 50000$	24
		$\geq 50000$ y $< 100000$	21
Presión arterial sistólica ( mmHg)		$\geq 100000$	16
		$\geq 120$	16
		$\geq 70$ y $<120$	19
		$\geq 40$ y $< 70$	19
pO <sub>2</sub> (mmHg) o pO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>		$< 40$	24
		pO <sub>2</sub> $\geq 60$ sin VM	16
		pO <sub>2</sub> $<60$ sin VM	32
		pO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> $\geq 100$ con VM	34
	pO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> $< 100$ con VM	38	
Puntuación		Mortalidad (%)	
Hasta 21		0	
22-44		1-10	
44-52		10-20	
53-57		20-30	
58-62		30-40	
63-67		40-50	
68-72		50-60	
73-78		60-70	
79-86		70-80	
87-96		80-90	
97-112		90-95	
113-159		95-99	
160-229		100	