

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO.**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO.

HOSPITAL REGIONAL "1° DE OCTUBRE".

I.S.S.S.T.E.

**MEDICION DE ESTRES OXIDATIVO EN
PACIENTES NO SEPTICOS.**

**TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL
DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN**

CIRUGIA GENERAL.

PRESENTA:

DR. RODOLFO APARICIO PONCE.

ASESOR DE TESIS:

DR. GERARDO DE JESUS OJEDA VALDEZ.

CIUDAD DE MEXICO, DF, 2006.



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.

DR. ALEJANDRO TORT MARTÍNEZ.
JEFE DEL SERVICIO DE CIUGÍA.
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGÍA
GENERAL.

DR. GERARDO DE JESÚS OJEDA VALDÉZ.
COORDINADOR DE CAPACITACION DESARROLLO E
INVESTIGACION.
PROFESOR ADJUNTO DEL SERVICIO DE CIRUGÍA.
ASESOR DE TESIS.

DR. JOSÉ VICENTE ROSAS BARRIENTOS.
JEFE DE INVESTIGACION.

DEDICATORIA.

A mis padres.

Por su apoyo incondicional en todo los momentos en que los he necesitado. Durante mi carrera como médico y mi desarrollo como especialista. Quienes siempre se han preocupado por mi educación.

A Yolanda.

Por ayudarme a crecer como persona y estar al igual que mis padres en momentos buenos y malos.

A Valeria.

Porque eres mi amor, mi vida, mi todo. Y eres el impulso que me mantiene a pesar de todo.

AGRADECIMIENTOS.

A mis maestros cirujanos, de quienes he aprendido la preocupación por el paciente, la cirugía y su preocupación por mi formación como cirujano. Además de otorgarme su confianza dentro del quirófano durante mi aprendizaje, dándome ánimo y corrigiéndome en mis errores.

A los enfermos que confiaron en mi sus vidas y fueron parte importante de mi aprendizaje como cirujano.

A mis compañeros residentes, quienes reforzaron en mi, el valor de la responsabilidad, la disciplina y el superar todos los obstáculos para seguir adelante en ésta carrera.

A mis amigos, quienes siempre que los he necesitado han estado conmigo.

A todos los que en algún momento dado me apoyaron sin pedirme nada a cambio.

INDICE

Resumen.....	4
Summary.....	5
Introducción.	6
Antecedentes.....	8
Mecanismos de daño celular.....	8
Depleción de ATP.....	8
Pérdida de la homeostasis del calcio.....	10
Radicales libres.....	11
Estrés oxidativo.....	11
Oxido nítrico.....	13
Daño del estrés oxidativo.....	14
Antioxidantes.....	17
Problema.....	18
Justificación.....	19
Hipótesis.....	19
Objetivos.	20
Material y métodos.....	21
Resultados.....	24
Discusión.....	27
Conclusiones.....	29
Bibliografía.....	30

INTRODUCCION.

La inflamación es un mecanismo fisiológico en respuesta al trauma y generalmente es controlado en el sitio del daño. Cuando el control local se pierde resulta en una respuesta inflamatoria exagerada definida como respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). En su patogénesis dependiendo del daño se incrementa la liberación de mediadores inflamatorios incluyendo especies reactivas de oxígeno, posiblemente como una consecuencia de la activación de los leucocitos polimorfonucleares y otras células del sistema reticulo endotelial. (1,2,6)

Estas especies reactivas de oxígeno reaccionan con una gran cantidad de sustratos biológicos, especialmente ácidos grasos poli-insaturados, esta reacción se incrementa induciendo un incremento en el huésped de metabolitos de lípidos peroxidados, provocando disfunción celular. (2,13)

La falta de balance entre estado redox o reducido se refleja en el estrés oxidativo el cual puede constituir una vía responsable del daño en varios tejidos y en parte ser la causante de la respuesta inflamatoria sistémica. (13)

Los mecanismos moleculares responsables de la lesión celular que conducen a la muerte celular son complejos y variados. Aunque no es posible determinar el lugar bioquímico preciso sobre el que actúa un agente lesivo, hay cuatro sistemas intracelulares particularmente vulnerables: el primero es la membrana celular que implica mantener la integridad de la misma, el segundo es la respiración aeróbica que afecta la fosforilación oxidativa y la producción de trifosfato de adenosina, el tercero es la síntesis de proteínas enzimáticas estructurales y por último el cuarto que es la conservación de la integridad del aparato genético de la célula, por lo que el estrés oxidativo de una manera u otra afecta estas cuatro sistemas de manera directa o indirecta. (13)

Los efectos pro inflamatorios de las especies reactivas de oxígeno (ERO) incluyen: daño endotelial, formación de factores quimiotácticos, reclutamiento de neutrófilos, liberación de FNT alfa e IL-1, daño mitocondrial y en consecuencia daño en el DNA, así como oxidación de

lípidos y proteínas. La respuesta de fase aguda que sigue al trauma quirúrgico genera e incrementa la producción de diferentes citocinas, esta condición genera un estado de estrés oxidativo y no necesariamente en pacientes sépticos. (1,2,6,8,13)

RESUMEN.

La acumulación de radicales libres derivados del oxígeno induce daño celular. Las células generan energía reduciendo el oxígeno molecular a agua. Durante éste proceso pequeñas cantidades de oxígeno reactivo parcialmente reducido se forma de manera inevitable producto de la respiración mitocondrial. Algunas de éstas formas son radicales libres que pueden producir daño a nivel de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Son conocidos como especies reactivas de oxígeno (ERO). Las células tienen sistemas de defensa para prevenir el daño causado por estos productos. Hay varios estudios realizados en diferentes entidades como la sepsis abdominal, sin embargo se desconoce de algún estudio que determine el estrés oxidativo en pacientes quirúrgicos no sépticos.

MATERIAL Y METODOS.

Estudio control, prospectivo, observacional para determinar el grado de estrés oxidativo en pacientes quirúrgicos no sépticos, los cuales fueron sometidos a procedimientos quirúrgicos programados y de urgencia sin estar con sepsis, en el Hospital Regional 1° de Octubre. Se determinaron nitritos de muestras venosas.

RESULTADOS.

Se incluyeron 20 pacientes, 10 mujeres y 10 hombres. Se encontró un promedio de nitritos de 0.588 en pacientes quirúrgicos no sépticos, en relación a los pacientes quirúrgicos sépticos de 3.0011.

CONCLUSIONES.

Se encontró una diferencia entre los promedios de valores de nitritos, sin embargo no se pudo realizar una diferencia de promedios debido al tamaño de la muestra.

DISCUSION.

El promedio de nitritos obtenida en pacientes quirúrgicos no sépticos fué menor que en aquella obtenida de los pacientes sépticos.

PALABRAS CLAVE.

Estrés oxidativo, especies reactivas de oxígeno, nitritos.

SUMMARY.

The accumulations of oxygen derived free radicals induce cell injury. Cells generate energy by reducing molecular oxygen to water. During this process, small amount of partially reduced reactive oxygen forms are produced as an unavoidable byproduct of mitochondrial respiration. Some of these forms are free radicals that can damage lipids, proteins, and nucleic acids. They are referred to as reactive oxygen species. Cells have defenses systems to prevent injury caused by these products. There are many studies made in different entities like abdominal sepsis, however its unknown studies who determinate oxidative stress in surgical patients without abdominal sepsis.

METHODS.

Is an observational and prospective study in surgical patients without sepsis to determinate oxidative stress. Which were operated in elective and emergency surgery without abdominal sepsis, at the Regional Hospital "1o de Octubre". Were determinates nitrites in venous blood sample.

RESULTS.

Twenty patients were included 10 female and 10 men. Average founded in the nitrite levels was 0.588 in surgical patients without sepsis versus 3.0011 in surgical patients with sepsis.

CONCLUSIONS.

It was found a difference between nitrites value averages. However it couldn't realize a difference between averages because the size of the sample.

DISCUSSION.

The values of nitrites founded in surgical patients without sepsis, were less in surgical patients with sepsis.

KEY WORDS.

Oxidative stress, reactive oxygen species, nitrites.

PROBLEMA.

El estrés oxidativo es considerado como uno de tantos mecanismos de daño celular que pueden ser reversibles o irreversibles. Se ha descrito en varias entidades que está en relación con la severidad del daño, tanto por isquemia como por repercusión. Así como se ha descrito el empleo de agentes antioxidantes para disminuir el daño celular en diferentes entidades.

Se han hecho varios estudios para determinar la severidad del daño celular y el grado de estrés oxidativo realizando mediciones con múltiples técnicas y utilizando diversos marcadores. Sin embargo no se han realizado estudios para determinar el grado de estrés oxidativo en pacientes quirúrgicos no sépticos, y así poder realizar alguna comparación con los pacientes quirúrgicos con sepsis de origen abdominal.

ANTECEDENTES.

MECANISMOS DE DAÑO CELULAR.

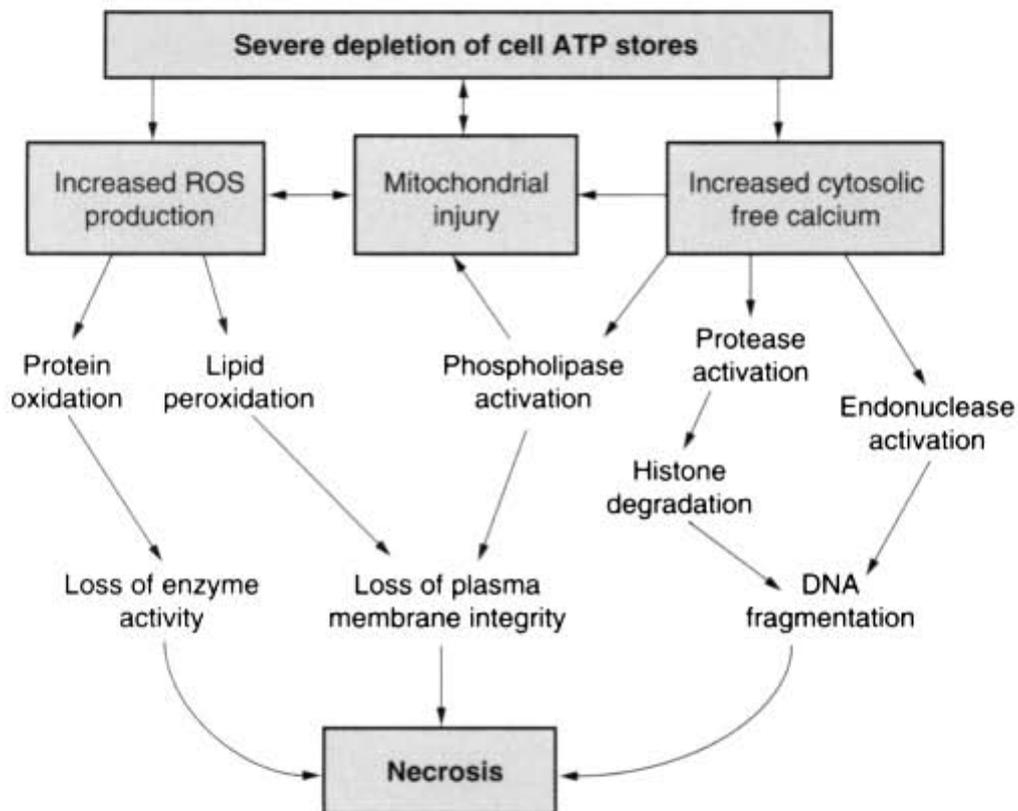
Como ya se mencionó los mecanismos de daño celular son complejos. La respuesta celular a los diversos tipos de daño celular depende del tipo de daño, su duración y la severidad del daño. Por lo que pequeñas dosis de alguna toxina química o breves períodos de isquemia pueden producir un tipo de daño reversible. Mientras que altas dosis de algún químico o periodos prolongados de isquemia resultan en muerte celular o un daño irreversible que acabará en muerte celular. Las consecuencias del daño dependerán del tipo, estado y adaptabilidad de la célula dañada. El estado nutricional, hormonal y las necesidades metabólicas son importante en ésta respuesta al daño. (2,7)

Depleción de ATP.

La depleción del ATP es la principal responsable del edema celular agudo. La depleción de ATP y la disminución en su síntesis se asocian frecuentemente a daño tóxico e isquémico. El ATP se requiere para muchos procesos de síntesis y de degradación dentro de la célula. Incluyen transporte de membrana, síntesis de proteínas, lipogénesis, y las reacciones necesarias para otras funciones. El ATP se produce por dos vías. La mayor parte en los mamíferos es la fosforilación oxidativa del fosfato de adenosina, en una reacción que resulta en la reducción del oxígeno por la transferencia de un electrón al sistema mitocondrial. La segunda vía de producción de ATP es la vía glucolítica, la cual genera ATP en ausencia de oxígeno a partir de la glucosa derivada de la hidrólisis del glucógeno. Por lo que tejidos con mayor capacidad glucolítica como el hígado, tienen una ventaja cuando los niveles de ATP caen debido a la inhibición de la vía oxidativa. Por lo que la depleción del ATP por debajo del 50% desencadena una serie de efectos dentro de los sistemas críticos celulares. Alterándole metabolismo celular primero con disminución de la bomba sodio potasio ATPasa causando edema celular por influjo de agua por ausencia de salida de sodio. (7,13,15)

El metabolismo pasa de aerobio a anaerobio generando ATP por vías anaerobias dando como resultado un incremento en la glucólisis

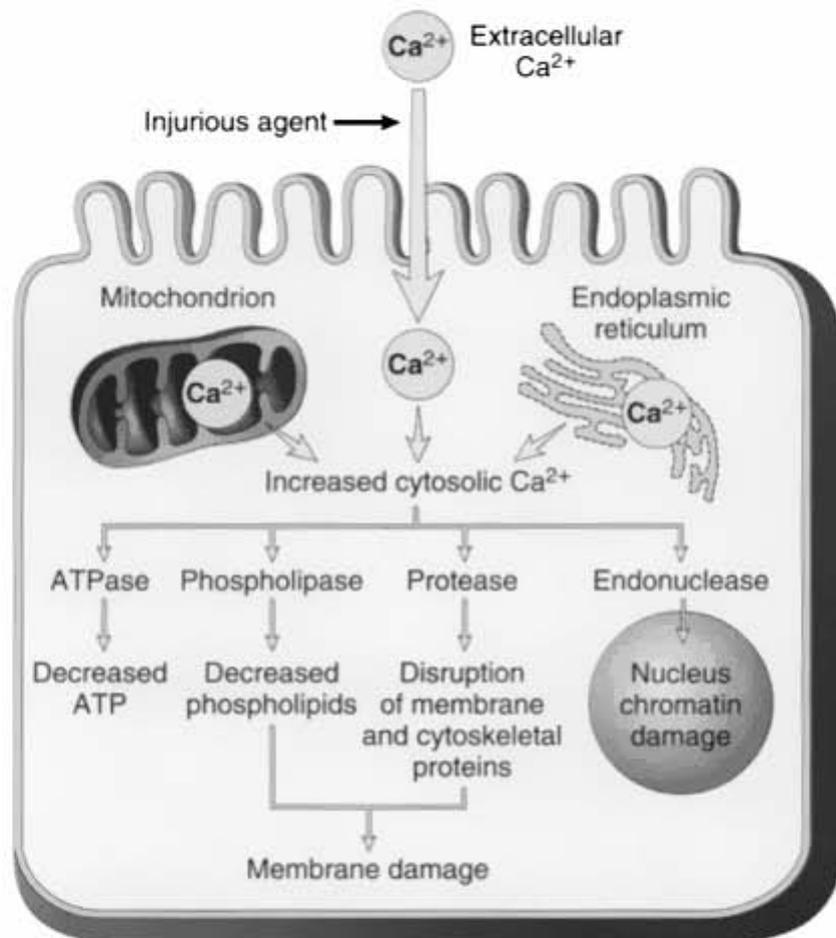
anaerobia y a su vez disminuyendo las reservas de glucógeno. Dando como resultado la acumulación de ácido láctico y fosfatos inorgánicos. Disminuyendo el pH intracelular y por lo tanto varias enzimas dependientes de pH. Otro efecto es el poco transporte de calcio fuera de la células permitiendo el influjo de calcio con diversos efectos dañinos a la célula. Conforme aumenta el daño disminuye la síntesis de proteínas llegando a fragmentar el DNA. (7,10,13).



Pérdida de la homeostasis del calcio.

Los iones calcio son mediadores importantes en el daño celular. Citosol libre de calcio se mantiene con concentraciones bajas, comparado con los niveles extracelulares, cuando hay daño celular se

secuestra calcio en el retículo endoplásmico y en la mitocondria, dichos gradientes son modulados por bombas de Ca, Mg -ATPasa. La isquemia provoca aumento en la concentración de calcio citoplasmática y con ello se activan enzimas con varios efectos adversos como las fosfolipasas, proteasas y endonucleasas las últimas responsables de la fragmentación del DNA y la cromatina.



Radicales libres.

Un radical libre es definido como cualquier especie que contiene uno o más electrones no apareados. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) es un término colectivo que incluye ambos: radicales de oxígeno y ciertos agentes oxidantes no radicales. Por ejemplo: los radicales de oxígeno son; superóxido, hidroxilo, peróxido e hidroxiperóxido. Los otros agentes oxidantes son: peróxido de hidrógeno, ozono y el hipoclorito que pueden ser convertidos rápidamente en radicales libres de oxígeno. Los ERO están implicados en la patogénesis de la sepsis (3). Sin

embargo, los ERO son también producidos durante el metabolismo normal y se encuentran en diversas reacciones enzimáticas, mitocondriales, transporte de electrones, señales de transducción, activación de factores nucleares, expresión de genes y en la acción antimicrobiana de los neutrófilos y los macrófagos. (13,15,16)

Estrés oxidativo.

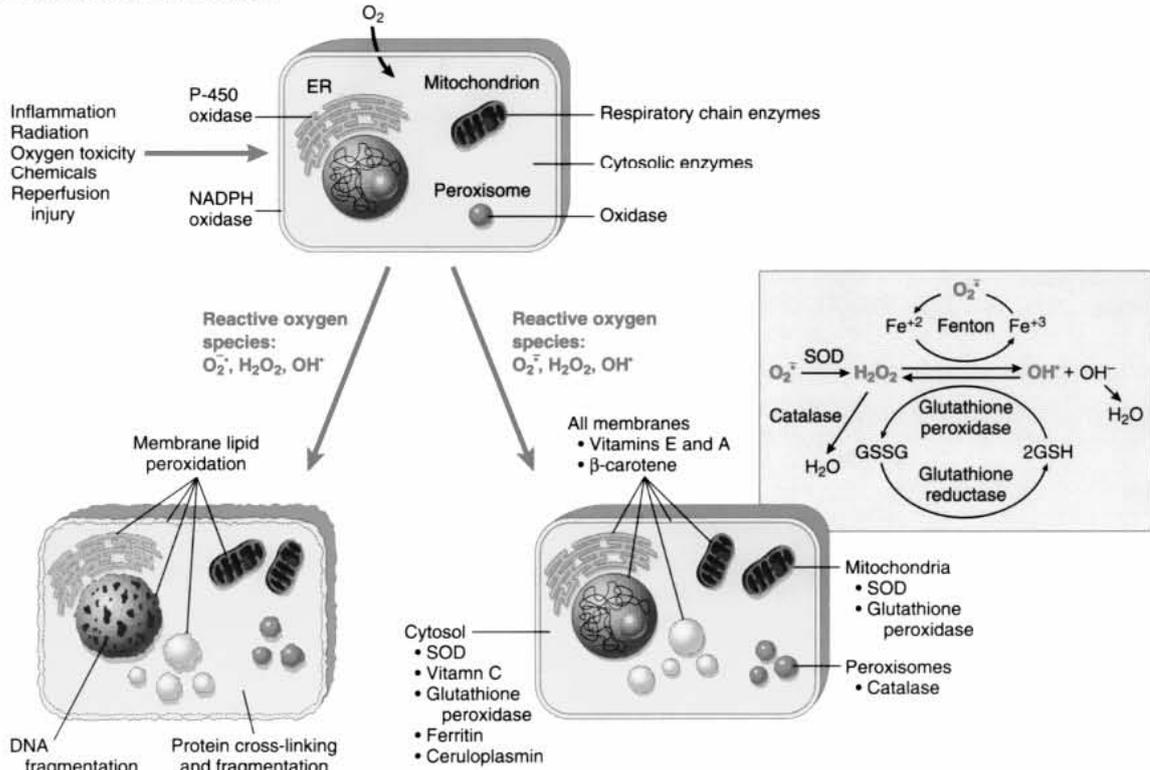
La acumulación de radicales libres derivados de oxígeno se le llama estrés oxidativo. Estos radicales libres son especies químicas que tienen un único electrón no apareado en una órbita externa, en ese estado el radical es muy reactivo e inestable entrando en reacción con sustancias químicas orgánicas e inorgánicas. Estas formas de radicales libres llegan a dañar lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

Los radicales libres pueden iniciarse dentro de las células por varios mecanismos. Los radicales libres basados en el oxígeno, carbono e hidrógeno son los de mayor importancia biológica. El oxígeno normalmente sufre una reducción de sus cuatro electrones a H₂O, catalizada por la citocromo oxidasa. La presencia de oxígeno intracelular, sin embargo, también permite la producción inadvertida de especies de oxígeno intermedio tóxico parcialmente reducido. Los tres más importantes son el superóxido O₂⁻, peróxido de hidrógeno H₂O₂, e iones hidroxilo OH⁻.

El superóxido es generado directamente por la auto-oxidación dentro de las mitocondrias o por enzimas citoplasmáticas como la xantina oxidasa, citocromo p-450 y otras oxidasas. Una vez producido en superóxido puede inactivarse de manera espontánea o, con mayor rapidez, por la enzima superóxido dismutasa, formando peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno es producido por la dismutación del superóxido o por las oxidasas presentes en los lisosomas. (3,13)

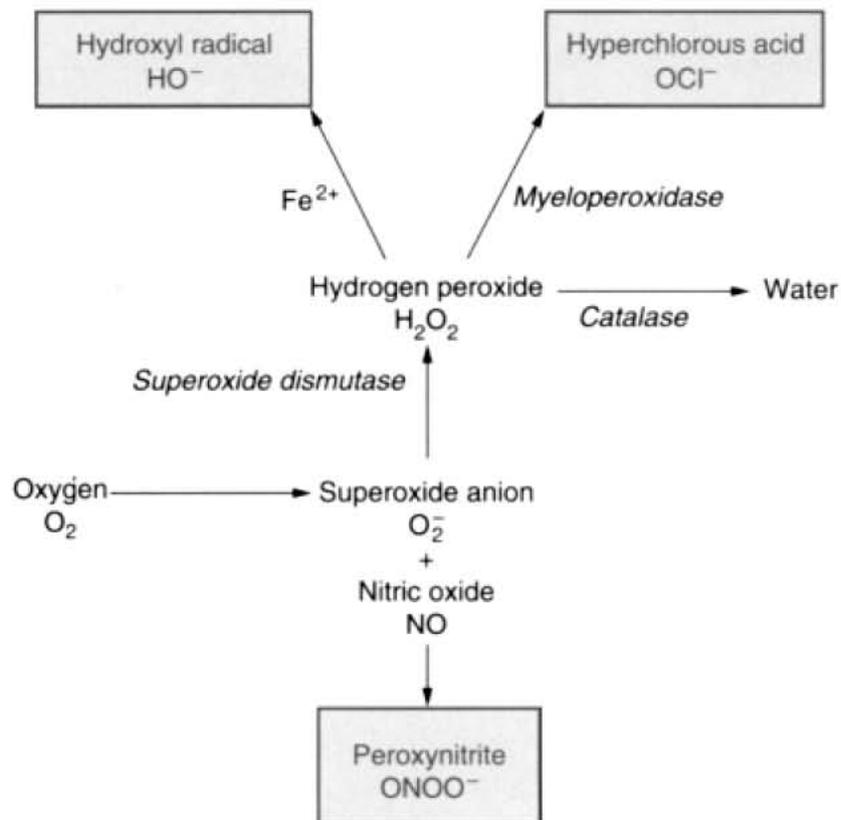
Los radicales hidroxilo están generados por la hidrólisis del agua causada por la radiación ionizante o por la interacción con metales de transición como el hierro, cobre. Denominándose reacción de Fenton. El hierro es especialmente importante en la lesión tóxica por oxígeno. La mayor parte del hierro está en la forma férrica (Fe⁺⁺⁺) y ha de ser reducido a la forma ferrosa (Fe⁺⁺) para que sea activo en la reacción de Fenton. Esta reducción puede ser estimulada por el superóxido, y por ello se requieren fuentes de hierro y superóxido para una lesión celular importante.

A. FREE RADICAL GENERATION



B. CELL INJURY BY FREE RADICALS

C. NEUTRALIZATION OF FREE RADICALS - NO CELL INJURY



Oxido nítrico.

El óxido nítrico (NO) es un gas, soluble en agua y lípidos, difunde a lo largo de la membrana celular por concentración de gradientes. En solución tiene una vida media de 0.1 s a 10 segundos. Como resultado de éstas características el NO es capaz de realizar varias funciones intracelulares. Virtualmente cualquier célula de los mamíferos puede producir NO, con una gran variedad de efectos a nivel cardiovascular, sistema nervioso central, y el sistema inmune. El amino ácido L-arginina es el precursor del NO que es producido en una reacción por tres isoformas de la enzima óxido nítrico sintetasa. De las tres isoformas de la enzima una puede ser activada por la inflamación y por daño celular incluyendo citocinas, endotoxinas, hipoxia y estrés oxidativo como ocurre en la sepsis y el choque, por lo que el NO producido en la inflamación puede ser un mediador en la fisiopatología de la misma, de la sepsis y el choque (16)

Los blancos del óxido nítrico en el organismo son varios teniendo efectos protectores y en otros casos efectos deletéreos, por ejemplo los efectos protectores son: relajación vasomotora, disminuye la agregación plaquetaria, disminuyendo la adhesión plaquetaria, actuando como reductor de radicales libres y preservando la integridad de la mucosa intestinal a dosis bajas. Sin embargo sus efectos deletéreos son: aumenta la permeabilidad de la mucosa intestinal a niveles altos, por otro lado alterar la permeabilidad vascular, vasodilatación exagerada, citotoxicidad con daño a nivel de DNA y peroxidación de lípidos. (16)

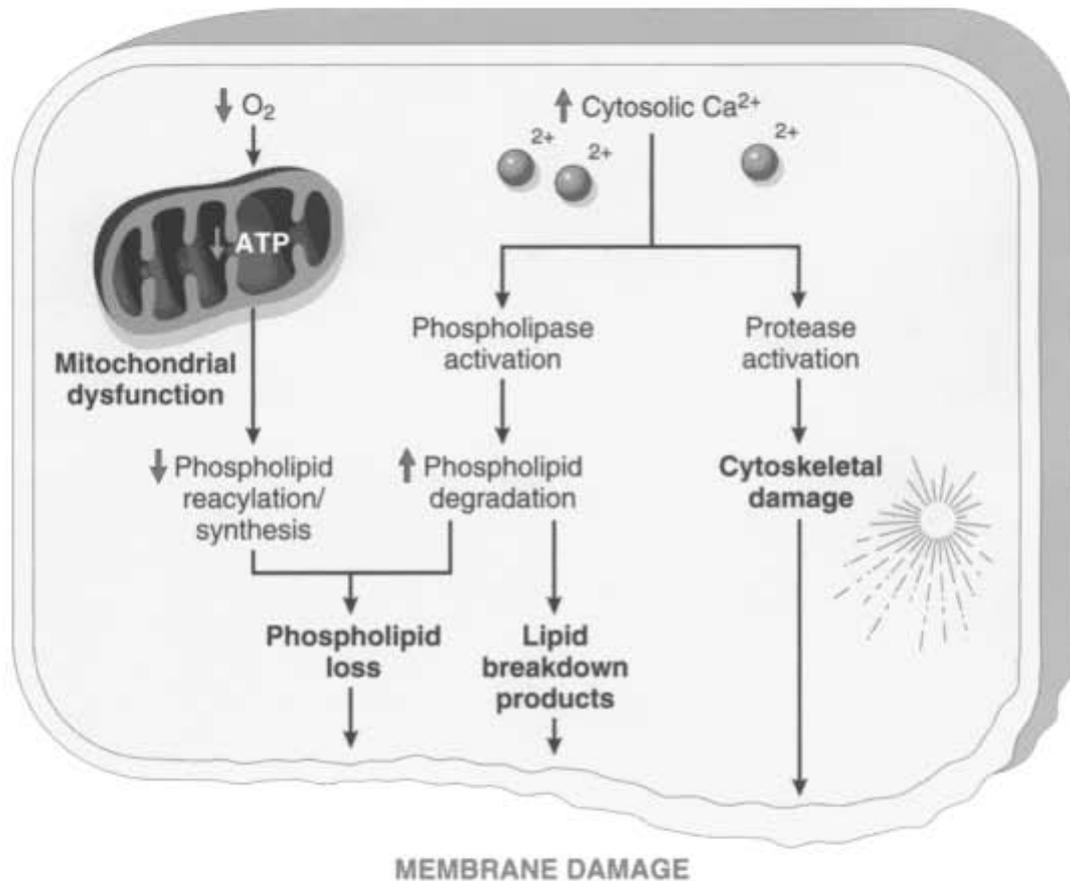
El óxido nítrico es un mediador químico importante que puede actuar como radical libre y puede ser convertido a un anión peroxinitrito altamente reactivo (ONOO⁻), además de NO₂ y NO₃. Los efectos de estas especies reactivas son de amplio rango, pero tres reacciones son particularmente importantes en la lesión celular que son: primero, la peroxidación de lípidos, segundo, la modificación oxidativa de las proteínas causando fragmentación de las cadenas polipeptídicas, y tercero, lesión en el ADN, reaccionando con la tiamina del ADN produciendo rupturas en la cadena. (16)

Daño del estrés oxidativo.

Los radicales libres en presencia de oxígeno pueden causar peroxidación de los lípidos dentro del plasma y membranas celulares. El daño oxidativo se inicia cuando la doble ligadura de un ácido graso no saturado es atacado por los radicales libres, particularmente el radical hidroxilo (OH). La interacción del radical libre finaliza en la producción de peróxidos, los cuales por sí mismos son inestables y reaccionan en

una cadena autocatalítica, la cual resulta en un extenso daño celular, de organelos y membranas celulares. (1,4,5,6)

Otro tipo de daño es el provocado a nivel de las proteínas donde la peroxidación de amino ácidos es promovida por los radicales libres formando enlaces disulfuro con amino ácidos débiles como son la metionina, histidina, cistina y lisina, provocando la fragmentación de las proteínas. La lesión a nivel del DNA se lleva a cabo por rompimiento de la cadena simple del DNA.



La pérdida temprana de la permeabilidad selectiva de la membrana es uno de tantos daños que se provoca en la célula por radicales libres. El daño en la membrana afecta la mitocondria y otros organelos, los defectos en la membrana en las células isquémicas pueden resultar en una serie de eventos que involucran la depleción del ATP y la activación de fosfolipasas dependientes del calcio. La membrana también puede ser afectada por toxinas bacterianas, proteínas virales, componentes líticos y una variedad de agentes químicos. Diversos mecanismos contribuyen al daño de la membrana celular. (8)

La disfunción mitocondrial resulta de una disminución en la síntesis de fosfolípidos, los cuales afectan las membranas incluyendo la mitocondrial. Al mismo tiempo se incrementa el calcio citosólico

asociado con la depleción de ATP dando como resultado un incremento del flujo de calcio dentro de la mitocondria, activando las fosfolipasas y rompiendo los fosfolípidos. El resultado neto es la disminución de fosfolípidos dentro de la mitocondria y otras membranas celulares y la acumulación de ácidos grasos. En la mitocondria estos cambios causan defectos en la permeabilidad, con lo que progresa el daño celular.(9,10)

La pérdida de los fosfolípidos de la membrana es un daño celular severo asociado con una disminución de los lípidos de membrana secundario a la activación de fosfolipasas dependientes de Calcio. La disminución de los fosfolípidos puede ser secundario a depleción de ATP o disminución en su síntesis.

El citoesqueleto son filamentos que permiten anclar el plasma circundante dentro de la membrana celular. La activación de proteasas por incremento del calcio citosólico causan daño en el citoesqueleto. Los ácidos grasos libres no esterificados como la acyl carnitina y los fosfolípidos se acumulan en las células dando como resultado degradación de más fosfolípidos, lo cual tiene un efecto detergente en las membranas. Estos se insertan en la capa bilipídica de fosfolípidos causando daño potencial en la permeabilidad y alteraciones electofisiológicas. (15)

Antioxidantes.

Las células han desarrollado múltiples mecanismos para remover los radicales libres y minimizar su daño. Los radicales libres son inestables y generalmente disminuyen espontáneamente. El superóxido es inestable y disminuye por dismutación a oxígeno espontáneamente e hidrógeno en presencia de agua. Hay diversos sistemas enzimáticos que contribuyen a la inactivación de los radicales libres. Los radicales libres son neutralizados por los antioxidantes como la vitamina E o tocoferol, compuestos que contienen radicales sulfhidrilo como la cisterna y el glutatión y proteínas séricas como la albúmina, la transferrina y la ceruloplasmina y varias enzimas como superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa. Los eliminadores de radicales libres son la superóxido dismutasa que se encuentra en muchos tipos de células en los peroxisomas y cataliza la conversión de superóxido a peróxido de hidrógeno y posteriormente formación de oxígeno y agua. Esta última reacción por la catalasa o la glutatión peroxidasa. Esta última es una enzima antioxidante que contiene selenio y glutatión, se encuentra en el citoplasma y la mitocondria. La destrucción de peróxido de hidrógeno por la glutatión peroxidasa produce glutatión disulfuro y agua, en otra reacción regresa a su forma como glutatión. El estrés oxidativo se mide con la concentración de glutatión y glutatión disulfuro, el rango de glutatión a glutatión disulfuro es mayor y por el contrario si hay menor concentración de glutatión se acumula una cantidad tóxica de peróxido de hidrógeno.(4,8,9,17)

Las vitaminas eliminadoras de radicales libres son el ácido ascórbico que reduce la peroxidación lipídica y los niveles de peróxido de hidrógeno, también la vitamina E en su forma activa es un antioxidante liposoluble utilizado para la prevención de la peroxidación lipídica. Su acción fuera de las membranas celulares es baja. (17)

Algunos estudios han demostrado que la combinación de algunos antioxidantes son complementarios y proporcionan un mejor tratamiento para los pacientes con estrés oxidativo, reduciendo la necesidad de la ventilación artificial, la estancia en la unidad de cuidados intensivos y disminución en el desarrollo de la falla orgánica múltiple. Tanto la superóxido dismutasa como la catalasa pueden prevenir la hiperglicemia asociada a disfunción endotelial y disminuir la respuesta vasodilatadora del NO. (3,4)

HIPOTESIS.

Los valores de nitritos que es un marcador de estrés oxidativo debe ser menor en pacientes quirúrgicos no sépticos que en los sépticos.

OBJETIVOS.

- I. Reportar los valores de estrés oxidativo presente en pacientes quirúrgicos no sépticos.
- II. Identificar si hay una diferencia significativa con el grupo pacientes quirúrgicos sépticos.
- III. Dar un valor de estrés oxidativo en este grupo de pacientes quirúrgicos no sépticos.

JUSTIFICACION.

Se trata de realizar un estudio en el cual se determine el estrés oxidativo en pacientes quirúrgicos no sépticos debido a que el estrés generado por el trauma quirúrgico activa una cascada conocida como respuesta de fase aguda, la cual disminuye el daño e inicia el proceso de mejoría. Es posible que la respuesta metabólica al trauma desencadene el estrés oxidativo en pacientes quirúrgicos no sépticos en un grado menor.

MATERIAL Y METODOS.

Diseño.

Observacional.

Prospectivo.

Ingresan al estudio pacientes con las siguientes características:

1. Pacientes internados en el Hospital "1° de Octubre" del servicio de cirugía adultos en el período de diciembre del 2005.
2. Pacientes sin patologías agregadas que sean pro-estrés oxidativo.
3. Pacientes sin sepsis abdominal.
4. Pacientes post operados electivamente o de urgencia sin sepsis abdominal.

Criterios de exclusión:

1. Pacientes postoperados con foco séptico abdominal y con datos de respuesta inflamatoria sistémica.
2. Pacientes con patologías agregadas pro estrés oxidativo.
3. Pacientes con tabaquismo.
4. Pacientes con choque hipovolémico.

Se ingresaron a estudio los pacientes en su postoperatorio mediato, los cuales eran pacientes programados para cirugía electiva, como pacientes ingresados por urgencias y sometidos a cirugía sin datos o evidencia de sepsis abdominal.

Se tomó muestra de sangre venosa a los pacientes en un tubo seco obteniendo 7 cc de sangre, la cual se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y posteriormente se centrifugaron las muestras. Dichas muestras se congelaron para posteriormente enviarlas al laboratorio de bioquímica en el departamento de Estrés oxidativo del Instituto Politécnico Nacional. Se enviaron 72 horas posteriores a su obtención y se mantuvieron congeladas en un termo con hielo y congelantes.

Dichas muestras se utilizaron para determinar nitritos como marcador de estrés oxidativo.

Para la determinación de nitritos se utilizó el METODO DE GREYS:

DETERMINACIÓN DE NITRITOS (MÉTODO DE GREYS)

A. Curva Estándard

1. Reactivos:

- NaNO_2

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

Por triplicado alícuotas de 250 μl

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

1. Aplicar 50 μl de Sulfanilamida a 250 μl de H_2O bidestilada (blanco) e inmediatamente después 50 μl de N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida agitar, 1 min. después de la aplicación de la N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida leer la A_{554} como blanco.
2. Aplicar 50 μl de Sulfanilamida a 250 μl de NaNO_2 e inmediatamente después 50 μl de N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida agitar, 1 min. después de la aplicación de la N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida leer la A_{554} de la muestra, y calcular la $F(x)=\text{abs. vs. Concentración}$.

Nota: Con esta técnica se realizó la curva control que esta en el anexo 1, nos ayuda para que cada problema (abs.) la transpolemos con su valor

en concentración ($\mu\text{g}/\text{ml}$), lo que se realiza con la ecuación de la recta ($y=mx+b$)

RESULTADOS.

En dicho estudio se incluyeron 20 pacientes, en el período postoperatorio inmediato los cuales no se encontraban con datos de respuesta inflamatoria sistémica y sepsis. Sin contar con antecedente quirúrgico de sepsis abdominal y que tenían ausencia de sepsis abdominal en los hallazgos quirúrgicos.

Cuadro 1.

Características basales de los pacientes.

Parámetro	Frecuencia. (n=20)
Sexo	
Masculino	10 (50%)
Femenino	10 (50%)
Edad	54.15 ± 14.32
Diagnóstico	No. De pacientes (20)
PO LAPE	4 (20%)
PO colecistectomía abierta	3 (15%)
PO apendicectomía	3 (15%)
PO colecistectomía por laparoscopia	2 (10%)
PO colecistectomía parcial	1 (5%)
PO apendicectomía + RIEEATT	1 (5%)
PO nefrectomía	1 (5%)
PO tumor retroperitoneal	1 (5%)
PO cierre de pared	1 (5%)
PO gastrectomía	1 (5%)
PO drenaje de absceso	1 (5%)
PO sello de agua	1 (5%)

Cuadro 2.

Diagnóstico desglosado.

numero	Sexo	edad(años)	Diagnóstico
1	Fem	70	PO colecistectomia abierta
2	Fem	63	PO LAPE+adherenciolisis
3	Masc	74	PO hemigastrectomia
4	Masc	47	PO LAPE + plastia de pared
5	Fem	64	PO cierre de pared
6	Masc	30	PO apendicectomia fase 2
7	Masc	54	PO colecistectomia laparoscòpica.
8	Fem	43	PO colecistectomia laparoscòpica.
9	masc	45	PO sello de agua, policontundido.
10	masc	23	PO colecistectomia parcial.
11	fem	70	PO drenaje de absceso.
12	fem	44	PO tumor retroperitoneal.
13	masc	52	PO apendicectomia+RIEEATT PO LAPE+omentectomia+resección
14	fem	66	ovario.
15	masc	64	PO colecistectomia abierta.
16	fem	52	PO apendicectomia fase 2
17	masc	63	PO LAPE
18	fem	48	PO apendicectomia fase 2
19	fem	78	PO nefrectomia derecha.
20	masc	53	PO colecistectomia abierta.

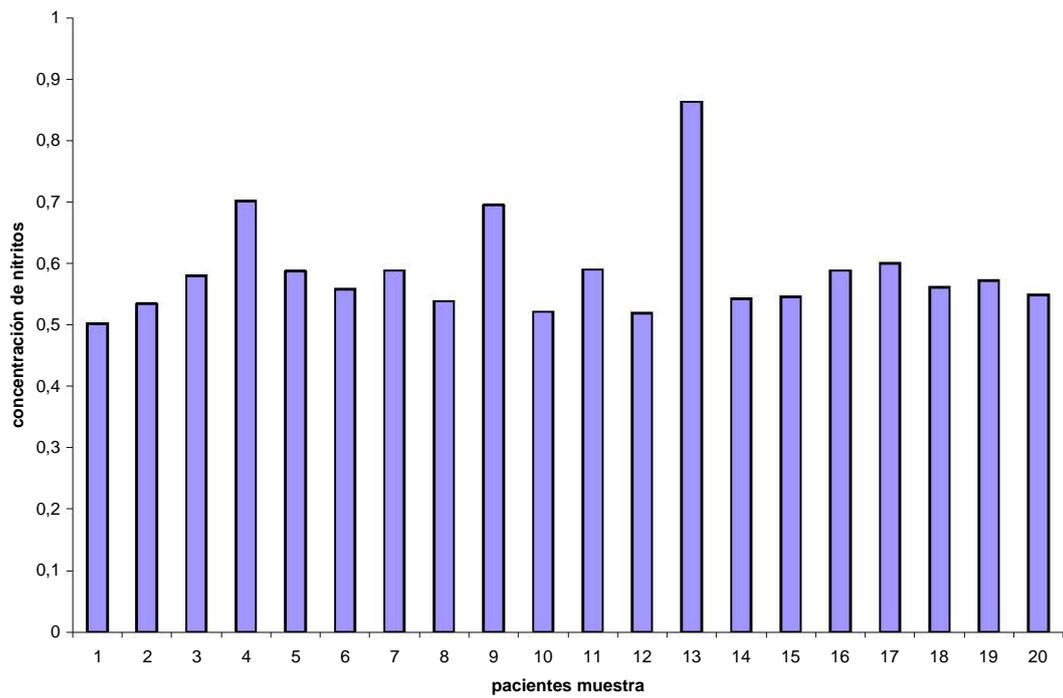
Cuadro 3.

Concentración de nitritos en muestra venosa en pacientes sépticos y no sépticos ($\mu\text{g/ml}$):

	Promedio \pm DE	Rango.
Pacientes sépticos	3.0011 \pm 1.0095	1.01 - 4.8489
Pacientes no sépticos.	0.588 \pm 0.080549	0.5 - 0.9

Gráfica 1. Concentración de nitritos.

Nitritos control



DISCUSION.

El daño celular por estrés oxidativo secundario a lesión por radicales libres se presenta comunmente secundario a una respuesta exagerada a la lesión, involucrando al estrés oxidativo dentro de la fisiopatología de la respuesta inflamatoria sistémica, sepsis y choque.

Gran parte de los problemas en pacientes en las unidades de cuidados intensivos incluyen padecimientos que involucran la inflamación descontrolada, sepsis, daño tisular o a múltiples órganos y estrés oxidativo. Se han realizado varios estudios en los cuales se induce sepsis abdominal mimetizando la sepsis por perforación intestinal lo que ocasiona daño por estrés oxidativo durante el proceso inicial de la inflamación hasta llegar a la sepsis. (6)

La medición del estrés oxidativo por diversos métodos y con diversos marcadores puede llegar a traducir la magnitud del daño en la sepsis y otras patologías, sin embargo al ser un traductor de lesión celular, también puede ser determinado el pacientes con respuesta a la lesión provocada por el trauma quirúrgico. (1,2,6)

En trabajos previos se ha tratado de realizar alguna diferencia entre la toma de muestra de sangre arterial y venosa para medir estrés oxidativo, sin embargo se observó que no hay diferencia significativa en el sitio de toma de muestra de sangre, ya sea arterial o venosa. (17)

Diversos estudios han demostrado que hay daño en la barrera intestinal secundario al estado de choque hemorrágico o trauma, causando translocación bacteriana y daño celular por endotoxinas, otros pépticos y radicales libres por isquemia, se ha reportado también que los reductores de radicales libres como la superóxido dismutasa y la xantina oxidasa reducen la síntesis de citocinas pro-inflamatorias, donde el superóxido y el radical hidroxilo son los principales radicales producidos en el daño por repercusión e isquemia.

La concentración de nitritos obtenida de pacientes quirúrgicos no sépticos mostró una cifra promedio menor que en los pacientes sépticos, sin embargo la diferencia de promedios no se llegó a realizar debido a la falta de muestra, así como a la múltiple variedad de diagnósticos en los pacientes quirúrgicos no sépticos, lo que puede dar origen a dos líneas de investigación para determinar con un número mayor de pacientes la diferencia entre sépticos y no sépticos y dentro de los no sépticos solamente involucrar un tipo de patología quirúrgica. Ya que en la respuesta aguda de la lesión se produce en pacientes que sufren trauma quirúrgico y no necesariamente tienen sepsis. Así como

iniciar la medición de estrés oxidativo dentro de muestras de tejido intestinal en pacientes quirúrgicos sépticos y no sépticos. (17)

CONCLUSIONES.

El estrés oxidativo es una forma de daño celular tanto agudo o crónico, en pacientes con sepsis abdominal se encuentra aumentado. En los pacientes post operados sin datos de sepsis se demostró que el promedio de nitritos es menor que en los pacientes post operados con sepsis abdominal.

No se puede determinar si hay una diferencia significativa entre pacientes quirúrgicos con sepsis abdominal y pacientes quirúrgicos sin sepsis abdominal ya que el tamaño de la muestra es insuficiente.

No es posible en éste momento determinar una cifra de valor de nitritos para pacientes quirúrgicos no sépticos, debido al tamaño de la muestra y a la diferencia entre varios diagnósticos de nuestros pacientes, a pesar de que el promedio entre dichas muestras de pacientes quirúrgicos no sépticos es uniforme.

BIBLIOGRAFIA.

1. Koksall G, Sayilgan C, Aydin S, Oz H, Uzun H. Correlation of plasma and tissue oxidative stress in intra-abdominal sepsis. *Journal of Surgical research* 2004; 122: 180 – 183.
2. Salvemini D, Cuzzorrea. Oxidative Stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1173 – 1185.
3. Gitto E, Romeo C, Reiter R.J, Basile M, Antonuccio P, Trimarchi G, Gentile C. Melatonin reduces oxidative stress in surgical neonates. *Journal of Pediatric Surgery*, Feb 2004; Vol 39 (2): 184 – 189.
4. Tsuyoshi M, Yamamoto H, Tabata T, Shimizu T, Endo Y, Hanasawa K. A free radical scavenger, edaravone (MCI-186) diminishes intestinal neutrophil lipid peroxidation and bacterial translocation in a rat hemorrhagic shock model. *Critical Care Medicine* 2005; vol 33 (5): 1064-1069.
5. Vaughan J, Walsh W , Neutrophils from pregnant women produce tromboxane and tumor factor necrosis alpha in response to linoleic acid and oxidative stress. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2005; 193: 830-835.
6. Andrades M, Ritter C, Moreira J, Dal Pizzol F. Oxidative parameters differences during non-lethal and lethal sepsis development. *Journal of Surgical Research*. 2004; 125: 68-72.
7. Flier J, Underhill L. Protective and damaging effects of stress mediators. *The New England Journal of Medicine*. January 15 1998; Vol 338 (3): 171-179.
8. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *The New England Journal of Medicine*. Feb 11 1999; Vol 340 (6): 448-454.
9. Macario A, Conway E. Sick Chaperones, cellular stress and disease. *The New England Journal of Medicine*. October 6, 2005; 353: 1489-1501.
10. Richard S, Hotchkiss A, Karl E. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *The New England Journal of Medicine*. 2003; 348 (2): 138 – 150.

11. Alonso de la Vega J, Díaz E, Serrano E, Carbonell L.F. Oxidative stress in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. Crit Care Med 2002; vol 30 (8): 1782 – 1786.
12. Papamichel C, Karatzis E, Karatzi K, Azanouridis K, Papaioannou T, Protegorou A, et. al. Red wine's antioxidant counteract acute endothelial dysfunction caused by cigarette smoking in healthy nonsmokers. Feb 2004; 147 (2): G1 – G5.
13. Bayir H. Reactive oxygen species. Crit Care Med 2005; vol 33 (12): 498 -501.
14. Himmelfarb J, McMonagle E, Freedman S, Klenzak J. Oxidative stress is increased in critically ill patients with acute renal failure. Journal of American Soc Nephrol 2004; 15: 2449 – 2456.
15. Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, Hamaguchi M, Kinoshita Y, Ogawa H. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. Critical Care Medicine 2003; Vol 31 (4): 864 874.
16. Levy R, Prince J, Billiar T. Nitric oxide: A clinical primer. Critical Care Medicine 2005; vol 33 (12): 492 – 495.
17. Padilla C. Medición de estres oxidativo en pacientes con sepsis abdominal. Tesis de ostgrado 2005. 1 – 50.