



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado



HOSPITAL REGIONAL “1° DE OCTUBRE”

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE
LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

SEGUIMIENTO DE LA MEDICIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO

EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL

Tesis de Posgrado para Obtener el título de médico especialista en
CIRUGÍA GENERAL

Presenta:

DRA. RUBICELIA ESPINAL BRITO

Asesor de Tesis:

DR. GERARDO DE JESÚS OJEDA VALDÉS

México Distrito Federal, Mayo 2007

31.2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A Hermila Brito Palacios, mi madre...

Porque siempre ha estado junto a mi, en las buenas y en las malas, aconsejándome, educando e inculcándome valores para conducirme correctamente y porque me ofrece su sabio consejo en el momento oportuno.

A mis hermanos...

Porque tengo la seguridad de su apoyo incondicional.

A Raúl, Cintli, Tali, Atziry y Sareni...

Porque con su inocencia, inquietudes y ocurrencias me motivan a seguir adelante y llenan de alegría mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de esta tesis, Dr. Gerardo de Jesús Ojeda, por su ejemplar disciplina, por su amistad, paciencia y su constante apoyo durante el desarrollo de esta tesis.

A mi profesor de curso Dr. Alejandro Tort y Dr. Horacio Olvera el espejo donde cualquier “aprendiz” de cirugía quisiera verse reflejado, ejemplo de profesionalidad.

A los Dres. Echavarrí, Ugalde, Torices, Cuevas, Becerril por sus enseñanzas y confianza.

Al Dr. Parra, Dr. Pichardo, por su espíritu infatigable.

A mis compañeros de residencia, con los que compartimos angustias y gratificaciones; una bella época irrepetible e incomparable.

A mi mamá por su paciencia, por el apoyo que me brindó, por la formación, por fomentar en mí el deseo de saber, de conocer lo novedoso y abrirme las puertas al mundo.

INDICE

Resumen

Summary

Introducción.

Antecedentes

Estrés oxidativo

Oxido nítrico

Daño del estrés oxidativo

Pronóstico y diagnóstico

Estrés oxidativo y algunas entidades

Tratamiento del estrés oxidativo

Sepsis

Síndrome de disfunción orgánica múltiple

Factores bioquímicos de la respuesta inmunoinflamatoria

Problema

Justificación

Objetivos

Hipótesis

Material y métodos

Resultados

Discusión

Conclusiones

Bibliografía

RESUMEN.

El estrés oxidativo es una representación de daño celular (agudo o crónico) y está en relación con la severidad de la respuesta sistémica. Se han realizado estudios previos para determinar el nivel de nitritos en sangre venosa para determinar el grado de estrés oxidativo en estos pacientes con sepsis abdominal y en pacientes sanos. Es necesario continuar la línea de investigación para determinar intervenciones terapéuticas para disminuir el daño celular.

Se realizó un estudio control, ambispectivo, observacional para determinar el comportamiento de los niveles de nitritos en pacientes previamente monitorizado tratados con diagnóstico de sepsis abdominal los cuales fueron sometidos a estudio previo. Y pacientes con diagnóstico de sepsis abdominal sometidos a procedimientos quirúrgicos de urgencia, en el Hospital Regional 1º de Octubre. Se determinaron nitritos de muestras venosas.

Se incluyeron 11 pacientes de estudio piloto, 6 mujeres y 5 hombres. Se encontró un promedio de nitritos de 0.588 en estos pacientes a 1 año de haber cursado con sepsis abdominal. Se ingresaron 20 pacientes con sepsis abdominal con promedio de nitritos de 3.0011.

Se encontró una diferencia entre los promedios de valores de nitritos comparable con niveles de nitritos en pacientes sanos, esto demuestra que el estrés oxidativo remite posterior a la remisión del cuadro desencadenante. Sin embargo es necesario continuar con dicha línea de investigación. El promedio de nitritos obtenida en pacientes de estudio piloto fue comparable con niveles de nitritos en pacientes sanos.

PALABRAS CLAVE.

Estrés oxidativo, sepsis abdominal, nitritos.

SUMMARY.

The oxidative stress is a representation of cellular damage (acute or chronic) and it is in connection with the severity of the systemic answer. They have been carried out previous studies to determine the level of nitrites in veined blood to determine the grade of stress oxidativo in these patients with abdominal sepsis and in patient healthy. It is necessary to continue the investigation line to determine therapeutic interventions to diminish the cellular damage.

Is a study control, ambispectivo, observational to determine the behavior of the levels of nitrites in patient previously monitored treaties with I diagnose of abdominal sepsis which were subjected to previous study. And patient with I diagnose from subjected abdominal sepsis to surgical procedures of urgency, in the Hospital Regional 1º Octubre. Nitrites of veined samples were determined.

11 patients of study pilot, 6 women and 5 men were included. He/she was an average of saltpeters of 0.588 in these patients to 1 years of having studied with abdominal sepsis. 20 patients were entered with abdominal sepsis with average of nitrites of 3.0011.

He/she was a difference among the averages of values of nitrites comparable with levels of nitrites in patient healthy, this demonstrates that the stress oxidativo remits later to the remission of the square to free. However it is necessary to continue with happiness it lines of investigation.

The average of nitrites obtained in patient of study steers was similar with levels of nitrites in patient healthy.

WORDS KEY.

Stress oxidativo, abdominal sepsis, nitrites.

INTRODUCCIÓN

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

Sepsis se refiere a la infección aguda, teniendo una presentación tóxica (febrícula, debilidad, anorexia) causada por la infección invasiva y choque séptico ocurre cuando los efectos de la sepsis causan colapso circulatorio. El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) es debido a infección y debe presentar dos ó más de los siguientes datos: fiebre (>38°C), hipotermia (<36°C), taquicardia (>90/min), taquipnea (>20/min) y alteraciones en leucocitos como leucocitosis (>12,000/ml), leucopenia (<4,000) o 10% ó más de bandas. Sepsis severa o grave es SIRS asociado a hipotensión que responde a líquidos o bien que cursa con disfunción orgánica, y que puede incluir –pero no está limitada–: lactato >2mmol/L, oliguria <30 mL/hr, hipoxemia PaO₂ <60 mmHg (con FiO₂ 21%) o alteraciones neurológicas. Si no es suficiente el manejo con líquidos y el paciente requiere de aminas para tener adecuada respuesta se considera choque séptico.^{2,5}

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

Clasificación de las infecciones intraabdominales según su etiología:

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

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 en pacientes con respuesta a la lesión provocada por el trauma quirúrgico, en pacientes con sepsis abdominal se encuentra aumentado. En los pacientes post operados en estudios previos se ha demostrado que sin datos de sepsis el promedio de nitritos es menor que en los pacientes post operados con sepsis abdominal. ^{9,10}

ANTECEDENTES

ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo es una condición en la que *hay una mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno que antioxidantes*, tales como las vitaminas liposolubles (E, A o β -caroteno) o hidrosolubles como la vitamina C, o algunas enzimas como la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, ya sea por el exceso de producción de los primeros o la falta de producción de los segundos y se ocasiona daños especialmente en pacientes en estado crítico.^{11,12,13,14}

Las especies reactivas de oxígeno (ERO's), moléculas o átomos formados en la reducción del oxígeno que pueden ser radicales o no-radicales libres, son producidos por la absorción de radiaciones, metabolismo de fármacos, procesos metabólicos normales y metales de transición. Los no-radicales de oxígeno se convierten en ERO's tras su reducción. Los ERO's más comunes son el superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y OH^+ .^{11,12,15}

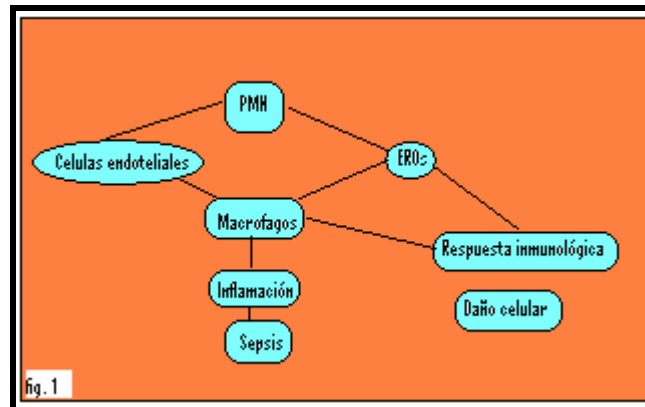
El oxígeno participa en la cadena de transporte de electrones dentro de la mitocondria, donde oxida otras moléculas para la producción metabólica de energía en forma de ATP, lo cual es conocido como óxido-reducción o *redox*. En estas reacciones, la molécula que dona su electrón se oxida y la molécula que recibe un electrón se reduce. Cuando el oxígeno reduce al agua forma varios ERO's. Éstos pueden ser creados por tres métodos: la pérdida de un electrón, la ganancia de un electrón o la unión covalente de dos moléculas en la que cada una tiene un electrón libre. La reacción de redox deja por un lado moléculas reducidas (ERO's) inestables capaces de reaccionar con otras moléculas y causar daño a la membrana celular, proteínas y ADN. Las altas concentraciones de oxígeno inducen la formación de ERO's.^{11,15}

Un oxígeno (O_2) al que se le agregan 4 electrones se reduce: en la primera adición de un electrón se forma superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el cual puede salir de la mitocondria y participar en reacciones químicas que dañan a la célula y, al actuar como un agente reductor, ayuda a producir otros oxidantes. La adrenalina, esteroides y folatos pueden reaccionar con el oxígeno y formar $O_2^{\cdot-}$. La adición de un electrón al superóxido produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2), principalmente en la mitocondria, que es el ERO's más estable; la superóxido dismutasa (SOD) remueve el $O_2^{\cdot-}$ en una reacción que genera H_2O_2 . Este último inactiva las enzimas, cruza la membrana celular y reacciona con hierro y cobre para reducirse y producir hidroxilo (OH^+), generalmente en las reacciones de Fenton. Son los ERO's más dañinos pues reaccionan con varias sustancias y causan daño del ADN, un factor que contribuye para el desarrollo de cáncer. Después de este proceso, el O_2 inicial es, al fin, totalmente reducido a agua mediante la adición de un electrón.^{11,12}

Los fagocitos también son importantes en su formación ya que lo usan como una defensa contra organismos extraños, estos sistemas de defensa en ocasiones también son dañinos para el cuerpo. Al presentarse un proceso infeccioso los macrófagos se activan liberando ERO's que estimulan al endotelio vascular, y a través de la liberación de interleucina 8 (IL-8) y plaquetas atraen a

otros macrófagos y polimorfonucleares, secretando más ERO's. Éstos ayudan a los macrófagos y polimorfonucleares en la eliminación de los agentes extraños a la vez que activan la respuesta inflamatoria. La consecuencia final es el bloqueo de la microcirculación por la agregación plaquetaria, de eritrocitos y leucocitos, que clínicamente se expresa como edema, hemorragia, trombosis, daño a órganos y muerte.^{11,12,16}

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



Daños del estrés oxidativo

Los ERO's causan daño a los lípidos, proteínas y ADN. Los lípidos son afectados a causa de los radicales hidroxilo mediante la peroxidación lipídica en la membrana celular. En la parte lipídica de la membrana, el OH[•] remueve el hidrógeno de las grasas insaturadas, generando un radical lipídico que, a su vez, remueve otra molécula de hidrógeno de la siguiente molécula formando otro radical lipídico. De esta forma, se crea una reacción en cadena que puede causar la muerte celular y una respuesta inflamatoria sistémica, también puede dañar las membranas celulares alterando su fluidez y permeabilidad, o pueden afectar el ADN al formar productos tóxicos como aldehídos y radicales alcoxil. Tras la respuesta inflamatoria los neutrófilos, estimulados por la elevación de la integrina β₂, y macrófagos migran a las áreas de peroxidación lipídica, se estimula la migración de los fagocitos a estos tejidos y generan más ERO's permitiendo que el ciclo continúe.^{11,14,17}

Las proteínas, en especial la función de las enzimas es afectada por los ERO's. El radical hidroxilo oxida los aminoácidos lisina, serina, arginina y prolina. La modificación de las enzimas ocasiona inactividad de éstas o que el sistema inmunológico las identifique como cuerpos extraños y cree anticuerpos contra ellas.¹¹

Los ERO's pueden dañar el ADN de dos formas: al dañar las bases nitrogenadas o al dañar el carbohidrato desoxirribosa. Los radicales hidroxilo atacan la timina y modifican su estructura química y la remueve como una base. Aunque la célula tiene un control de la replicación al reparar los errores de transcripción, no siempre encuentra los errores, por lo que no puede controlar todo el daño. Además los ERO's también afectan la actividad de la enzima DNA polimerasa por lo que su fidelidad disminuye. La modificación de la timina a

glicol-timina y otros cambios en el ADN por sus productos se detecta en la orina, indicando una actividad oxidativa excesiva. Estos cambios en el ADN sugieren un posible desarrollo de cáncer, ya que pueden propiciar su reproducción y metástasis, sin embargo, también se sabe que el exceso de éste puede ocasionar su destrucción.^{11,14,15}

Oxido Nítrico

El óxido nítrico (NO) es un vasodilatador endógeno implicado en la hipotensión inducida por sepsis, es además un inmunomodulador que en concentraciones altas puede tener efectos citotóxicos. Tiene un papel fisiopatogénico importante en el desarrollo del choque séptico, la inhibición de su actividad o producción es útil en el tratamiento de éste estado. La enzima responsable de la producción de NO es la sintetasa del óxido nítrico (NOS) presente en tres isoformas.^{16, 17}

Las dos primeras isoformas están presentes en ciertas células (cNOS) no requieren agentes que estimulen su expresión, pero dependen de la activación inducida por el calcio. Estas dos isoformas son el NOSIII o eNOS que fue aislada de las células endoteliales y el NOSI o nNOS aislada del tejido neuronal del cerebro. La tercera isoforma es diferente a las demás debido a que su expresión es inducida por mediadores inflamatorios y su actividad es independiente del calcio, se conoce como NOS inducible (iNOS o NOSII). La degradación del I κ B y activación del NF κ B se asocian al incremento del iNOS, proteína inflamatoria del macrófago 2 (MIP-2) e ICAM-1. Las tres isoformas de NOS oxidan el grupo guanidino terminal del L-arginina para producir óxido nítrico y L-citrulina. Los análogos de L-arginina, actúan como inhibidores, sustituyen a los grupos guanidino y bloquean la producción de óxido nítrico.^{24,25}

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

Pronóstico y diagnóstico

Para el pronóstico del posible desarrollo de enfermedades por estrés oxidativo se miden los niveles séricos de: glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, catalasa, retinol, tocoferol, caroteno, ascorbato (especialmente en pacientes que desarrollan falla en algún órgano), selenio y O₂, que en condiciones de estrés oxidativo se encuentran bajos; glutatión, xantine oxidasa peróxidos de lípidos, carbonilos proteicos y malondialdehído, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, generalmente se encuentran altos; y los niveles de vitamina E, cobre y zinc no varían significativamente. También se toman en cuenta los niveles en orina de F2-isoprostanos, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y desoxiguanosina; y finalmente en la exhalación los niveles de peróxido de hidrógeno, isoprostano y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.^{11,12}

Estrés oxidativo y algunas entidades

La acumulación excesiva de ERO's se puede deber a procesos fisiopatológicos o inhabilidad de los antioxidantes para reducir su acumulación. La escasa producción de antioxidantes o su destrucción ocasiona el aumento de radicales libres. La formación de ERO's se asocia con la severidad de la enfermedad, lo cual revela la importancia de controlar su producción.^{11,12,13,14}

Las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo son choque séptico, sepsis, choque cardiogénico, coagulación intravascular diseminada, enfermedad cardiovascular, quemaduras, diabetes mellitus, trauma, enfermedad pulmonar crónica obstructiva, heridas, reperfusión isquémica y cáncer. Algunos síndromes asociados al estrés oxidativo son el síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA), de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), de disfunción orgánica múltiple (SDOM).^{11,13,14}

a) Reperfusión isquémica

El daño por reperfusión isquémica se relaciona con la formación de radicales libres. Las células endoteliales responden a la isquemia inducidas por las endotoxinas, citocinas, adherencia neutrófila y acidosis para la formación de xantina oxidasa que es responsable de la formación de $O_2^{\cdot-}$ en la reperfusión. Estas células son estimuladas para incrementar la permeabilidad vascular ocasionando la disminución de capilaridad.¹¹

b) Quemaduras

En los casos de quemaduras las concentraciones de malondialdehído a nivel tisular; son mayores, al igual que las proteínas diana del daño oxidativo. La actividad de la superóxido dismutasa, la elastasa, la catalasa y la enzima FLA₂ también es mayor en aquellos pacientes quemados con respecto a un grupo control. Aunado a esto, los valores de β -caroteno son menores en los casos de quemaduras.¹⁸

c) Síndrome de distrés respiratorio agudo y sepsis

En estudios realizados acerca de SDRA y sepsis, los niveles de antioxidantes disminuyeron y los ERO's aumentan. Los pacientes críticos con sepsis que murieron tuvieron niveles más bajos de xantina oxidasa, mayor producción de radicales libres y niveles altos de lactato que los pacientes con sepsis que sobrevivieron. En pacientes con SDRA el estrés oxidativo aumentó, disminuyeron los niveles de nutrientes con antioxidantes y aumentó la peroxidación lipídica. Durante el estrés oxidativo y trauma hay depleción de glutamina, en los pacientes en estado crítico la deficiencia de glutamina y aumento de ERO's aumenta la mortalidad. En los pacientes con síndrome de distress respiratorio agudo (SDRA), una reducción de los niveles plasmáticos de nutrientes con propiedades antioxidantes es evidencia de estrés oxidativo.¹¹

d) Enfermedades cardiovasculares

Los niveles altos de estrés oxidativo se asocian con la prevalencia de enfermedades cardiovasculares en pacientes en cuidados intensivos. Los

radicales libres se relacionan con los procesos de aterosclerosis, es decir, los ERO's aumentan el crecimiento vascular de las células musculares lisas y el aumento de la apoptosis. Esto produce la inactivación del óxido nítrico ocasionando la disfunción endotelial y producción de ERO's los cuales agrupan los monocitos en la pared vascular e inducen aterosclerosis.¹¹

e) Diabetes mellitus

Los marcadores plasmáticos de la peroxidación lipídica son mayores en pacientes con diabetes mellitus y el daño al ADN es cuatro veces mayor que en pacientes sin esta enfermedad. La hiperglicemia contribuye al estrés oxidativo con la formación de ERO's con la autooxidación de la glucosa y deprime las defensas naturales antioxidativas. En estos pacientes disminuye el nivel de glutatión en el eritrocito relacionado con el control de los niveles de hemoglobina¹¹

Tratamiento del estrés oxidativo

Para prevenir la formación de ERO's en pacientes en cuidados intensivos es necesario administrar oxígeno a una concentración requerida para una oxigenación dentro de parámetros normales. En el tratamiento del estrés oxidativo es importante tener un sistema apropiado de cuidados médicos y asistenciales, equipo y profilaxis.¹¹

En la homeostasis del cuerpo los rangos de reducción y oxidación son iguales, es decir, son equilibrados como en la mayoría de los humanos sanos. El balance de redox se mantiene por enzimas especializadas y antioxidantes creados por el cuerpo. El plasma y los eritrocitos tienen propiedades eliminadoras (scavengers) de radicales libres y antioxidantes, cuando el O_2^{2-} entra en ellos, la catalasa puede destruir los radicales libres. Es por eso que actualmente se está estudiando el tratamiento de estrés oxidativo por medio de una dieta con suplementos antioxidantes.^{11,12,13,14}

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

Los eliminadores de radicales libres de oxígeno son el superóxido dismutasa (SOD), catalasa y sistema de glutatión. Administrar eliminadores de radicales libres durante isquemia o reperfusión disminuye la formación de ERO's y daño celular. El SOD cataliza la conversión de $O_2^{\cdot-}$ a O_2 y H_2O_2 , el H_2O_2 se reduce por la catalasa o el glutatiónperoxidasa. El pretratamiento con SOD protege contra envenenamiento en pacientes que reciben altas concentraciones de oxígeno. La catalasa lo convierte a H_2O y O_2 en la membrana celular, actúa principalmente en la remoción de H_2O_2 de las células del miocardio.¹¹

El medicamento antioxidante más utilizado es la N-Acetilcisteína (NAC o mucomyst), un derivado comercial de la L-cisteína y se disocia en acetato y cisteína. Esta última se une con el glutamato para formar una pequeña proteína llamada glutatión. Además al separarse deja un grupo sulfidrido (tiol) que también tiene una acción antioxidante. Entre sus efectos están la reducción de la formación de ERO's y el estrés oxidativo así como sus enfermedades (fatiga diafragmática) y síndromes; también actúa incrementando la fagocitosis de los neutrófilos en pacientes con sepsis y síndrome de respuesta sistémica inflamatoria. Este medicamento se puede administrar por vía oral, intravenosa o por inhalación. Ha sido utilizado desde hace varios años para enfermedades como la obstrucción pulmonar, y actualmente están siendo probados como tratamiento del SDRA. Estudios de los efectos hemodinámicos del tratamiento con NAC han demostrado que el 45% de los pacientes que reciben este tratamiento aumentan su consumo de oxígeno, además se mostró mayor supervivencia y una atenuación del estrés oxidativo en pacientes con sepsis. Aunque no se han hecho suficientes estudios para definir a qué tipo de pacientes beneficia más el uso de NAC, se ha encontrado que el tratamiento con este medicamento beneficia a los pacientes que aún no han presentado estrés oxidativo, es decir, que estén en el proceso inflamatorio o que acaben de presentar la isquemia.^{11,13}

La glutatión peroxidasa (GSH) es una enzima antioxidante que contiene selenio y glutatión, compuesta de glutamina, cisteína y glicina. Se encuentra en el citoplasma y mitocondria. La destrucción de H_2O_2 por la glutatión peroxidasa produce glutatión disulfuro y agua, en otra reacción retorna a glutatión. El estrés oxidativo se mide con la concentración de glutatión y glutatión disulfuro. El rango de glutatión a glutatión disulfuro es mayor, si hay menor concentración de glutatión se acumula una cantidad tóxica de H_2O_2 .¹¹

Las vitaminas son eliminadoras de los radicales libres de oxígeno. El ácido ascórbico reduce la peroxidación lipídica y los niveles de H_2O_2 . La vitamina E en su forma activa de α -tocoferol es un antioxidante liposoluble usado para la prevención de peroxidación lipídica como en pacientes con aterosclerosis y disminuyendo la fatiga diafragmática. Protege los ácidos grasos poliinsaturados en la membrana celular de la reacción autocatalítica en cadena de la peroxidación lipídica. Su acción fuera de las membranas celulares es baja. Además se ha encontrado que en pacientes con sepsis disminuye la peroxidación de los lípidos, la coagulación en los vasos sanguíneos, los niveles de plasma de lactato y el daño hepático, aunado a esto aumenta la generación de ATP, la población de monocitos y la tasa de supervivencia.^{11,13}

El tratamiento con vitamina C aún no ha sido muy estudiado, esto se debe a que en condiciones de estrés oxidativo extremo, como sepsis, puede actuar

como pro-oxidante. La superóxido desmutasa tiene el mismo efecto en condiciones de sepsis, ya que al actuar como antioxidante libera el radical $\cdot\text{OH}$, y para eliminarlo debe haber una cantidad adecuada de catalasa.¹³

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

Se ha reportado que la catálisis de descomposición del peroxinitrito y la SOD mimética previene la lesión orgánica asociada al choque, inflamación y lesión por reperfusión isquémica. La lidocaina se ha administrado como un agente antioxidante para tratar la hiperoxia inducida y la sepsis inducida y disfunción diafragmática; atenúa la fatiga e inhibe la peroxidación lipídica.¹¹

Tanto la SOD como la catalasa pueden prevenir la hiperglicemia asociada a disfunción endotelial y disminuir la respuesta vasodilatadora al óxido nítrico. La SOD potencia el efecto del óxido nítrico y la glucosa excesiva tiene un efecto negativo en la función celular endotelial.¹¹

Las hemo-oxygenasas (HO's) son enzimas necesarias para el metabolismo del hemo, es decir, para la reacción inicial de la degradación del grupo hemo que genera cantidades equimolares de biliverdina IXa, monóxido de carbono (CO) y hierro libre. La transcripción de HO-1 es activada por la estimulación del lipopolisacárido (LPS) bacteriano, estrés por calor, hipoxia y exposición a óxido nítrico (NO); en las células endoteliales su transferencia genética protege contra la lesión del pulmón por los oxidantes. La expresión de HO-2 y HO-3 ocurre en varias células. Estas HO's se relacionan con la defensa corporal contra el estrés oxidativo y la inhibición de citocinas proinflamatorias. Se ha demostrado que su propiedad antioxidante está mediada por los productos de los HO's, es decir, por la bilirrubina, CO y ferritina.¹⁹

La expresión del HO-1 y HO-2 es importante en la ventilación artificial con presencia de LPS bacteriano. La inhibición de la actividad de la sintetasa de óxido nítrico inducible (iNOS) altera la regulación de la sepsis inducida de los músculos con HO's. La inhibición de la actividad del HO aumenta el estrés oxidativo muscular propiciado por LPS y empeora la disfunción muscular contráctil causada por LPS.¹⁹

SEPSIS

Hasta 1992 la sepsis y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) eran considerados como el mismo padecimiento, éste tenía como síntomas el aumento de la temperatura, inflamación, alteraciones en el ritmo cardíaco y respiratorio y cambios en el conteo y composición de los glóbulos blancos. En ese año, el Colegio Americano de Médicos de Tórax (American College of Chest Physicians, ACCP) y la Sociedad de Medicina de Cuidados Intensivos (Society of Critical Care Medicine, SCCM) propusieron definiciones para sepsis, SRIS, sepsis severa, entre otras; con el fin de mejorar el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.^{5,20}

La sepsis es un estado grave de estrés oxidativo con presencia de defensas antioxidantes endógenas vencidas. Los síntomas característicos de esta entidad son (entre otros): plaquetopenia, oliguria, alteraciones en la perfusión tisular, llenado capilar alargado, petequias, hipoglucemia y cambio en el estado mental del paciente. Se asocia a varias condiciones como SRIS, choque séptico y síndrome de disfunción orgánica múltiple (SDOM), además de una relación entre la respuesta inflamatoria y la coagulación. La sepsis presenta un desequilibrio entre los pro y los anti-inflamatorios, por lo que puede existir una respuesta inflamatoria exagerada, inmunosupresión, apoptosis o la falla de algún órgano.⁵ Actualmente representa un problema grave de salud, en los últimos 30 años su mortalidad y morbilidad (del 28 al 50%) no han variado o incluso han aumentado, debido a la falta de estudios e investigaciones, el aumento de la esperanza de vida de los pacientes, de las enfermedades crónicas degenerativas y de la utilización de procedimientos quirúrgicos.^{16,20}

Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple

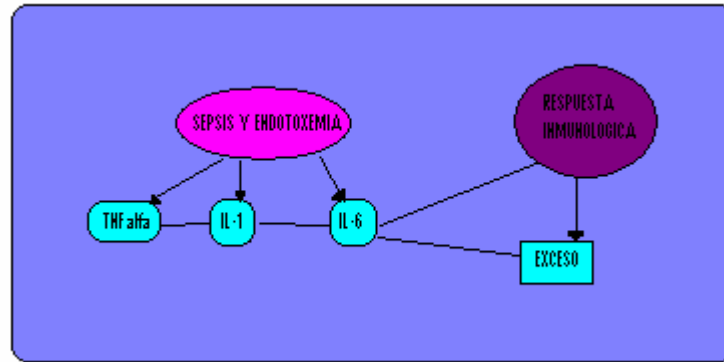
El SDOM se define como una entidad que produce la falla progresiva de varios órganos o sistemas, y es la causa más común de muerte actualmente en la unidad de cuidados intensivos. El sistema SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) es utilizado para evaluar la mortalidad de este padecimiento asociado a sepsis, que correlaciona el número de órganos que fallan con el porcentaje de mortalidad, estos datos se recolectan en una tabla para finalmente cuantificarlos dándole una calificación más alta mientras más órganos estén afectados. Así, se ha encontrado que los pacientes que tienen una calificación más alta en los primeros 2 días tienen un índice de mortalidad del 95%.²⁰

Los factores relacionados con la presencia de SDOM son:^{3,20}

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

ayuda de las proteínas C y S, antitrombina y el inhibidor de la vía del factor tisular.

- *Alteraciones de la fibrinólisis:* Las células endoteliales son la principal fuente de la enzima responsable de la fibrinólisis: el activador plasminógeno, así como de su inhibidor. Éste es limitado por la proteína C, lo que permite la fibrinólisis. Cuando la acción del activador plasmogénico es menor a la de su inhibidor, se crea un estado procoagulante por la supresión de la fibrinólisis.
- *Daño endotelial:* Se puede deber a efectos tóxicos de varios mediadores o a los procesos causantes de la enfermedad. El daño endotelial puede incrementar la permeabilidad vascular que se refleja en una mala distribución de la sangre en los órganos y por consiguientes la falta de nutrientes, oxígeno y otras sustancias transportadas por ella. Además la sepsis severa se acompaña generalmente de un bombeo de sangre deficiente que ocasiona una mala perfusión de sangre a los órganos. La activación de las células incrementa la expresión de sustancias potencialmente dañinas como la óxido nítrico sintetasa, que incrementa este compuesto, las sustancias de adhesión intercelular y las interacciones de las células endoteliales. Al alterar los niveles de los mediadores, se puede modificar el tono de los vasos, en presencia de vasopresina o endotelina, se produce vasoconstricción y en presencia de óxido nítrico e histamina se dilatan los vasos, ocasionando hipotensión. La falta de irrigación a las células endoteliales puede ocasionar edema, infiltración celular y daño tisular. Generalmente se observa edema pulmonar, aunque en pacientes con sepsis severa también se puede encontrar en hígado, riñones, corazón, piel, músculos e incluso cerebro.
- *Alteraciones de la mucosa intestinal:* La sepsis está asociada con el incremento de la permeabilidad de los intestinos, la pérdida de la mucosa intestinal y la permanencia bacteriana. Dado que los enterocitos de la mucosa intestinal son productores de citocinas, los daños causados por la sepsis pueden verse reflejados en otros órganos como el hígado, que la recibe por medio de la vena porta. Durante el proceso inflamatorio, la mucosa intestinal incrementa la cantidad de citocinas que secreta, de ellas la más importante es la interleucina 6 (IL-6). Esta citocina forma parte de la respuesta inflamatoria para proteger al cuerpo de organismos invasores, pero además, limita la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y a la interleucina 1 (IL-1), sirviendo así, como pro y anti-inflamatorio, dependiendo de la concentración de las células y la necesidad del organismo.¹³
- *Anormalidades en la microcirculación:* Se pueden formar agregados plaquetarios que impiden el paso de la sangre por los capilares provocando isquemia en algunos casos. Debido al estancamiento de las células y a la trombosis resultante, la sepsis puede venir acompañada de una deformación de los eritrocitos.



- *Utilización de oxígeno:* Aún cuando hay una irrigación correcta en algunos casos, la habilidad de las células de utilizar el oxígeno no siempre es la necesaria a causa de un mal funcionamiento de las mitocondrias. La endotoxina reduce el oxígeno que se consume lo que conlleva a un choque en el que se producen oxidantes que activan la adenosin-ribosa-difosfato resultando en falta de energía y disfunción respiratoria e intestinal. Además la sepsis induce a un aumento de la energía requerida en el descanso, un balance de nitrógeno negativo, hiperglicemia y aumento de gluconeogénesis.

Algunos factores que pueden propiciar mayor cantidad de órganos dañados son la edad, ya puede haber problemas anteriores en algunos órganos y con la edad las probabilidades de que esto suceda aumentan; los factores genéticos, que pueden afectar la producción de mediadores endógenos; y el sexo del paciente que puede provocar mayor susceptibilidad a ciertas enfermedades.¹⁴ Entre los factores genéticos que hacen susceptible a un grupo de la población para desarrollar sepsis son los polimorfismos (pequeñas diferencias genéticas entre algunos individuos). Estos polimorfismos, en la mayoría de las interleucinas se asocian a susceptibilidad en diferentes enfermedades infecciosas, sin embargo, específicamente en la IL-1 estas modificaciones genéticas no causan predisposición a las infecciones sino a la sepsis en ciertos grupos étnicos como los caucásicos y españoles.²²

Factores bioquímicos de la respuesta inmunoinflamatoria

En la sepsis la activación de una respuesta inmunoinflamatoria ocurre tanto por estímulos infecciosos como no infecciosos. Las bacterias gram-negativas y principalmente las gram-positivas son las responsables de la respuesta infecciosa, que es resultado de la estimulación de la respuesta inmunológica innata mediada por los monocitos, macrófagos y neutrófilos. Estas células son activadas ante la presencia de bacterias e inician su actividad fagocitaria. El lipopolisacárido (LPS, endotoxina) es el principal componente de la pared celular de las bacterias gram-negativas y las exotoxinas son de las bacterias gram-positivas. Los agentes no infecciosos que producen una respuesta inmunoinflamatoria son químicos, alérgicos y por radiación.^{12,23}

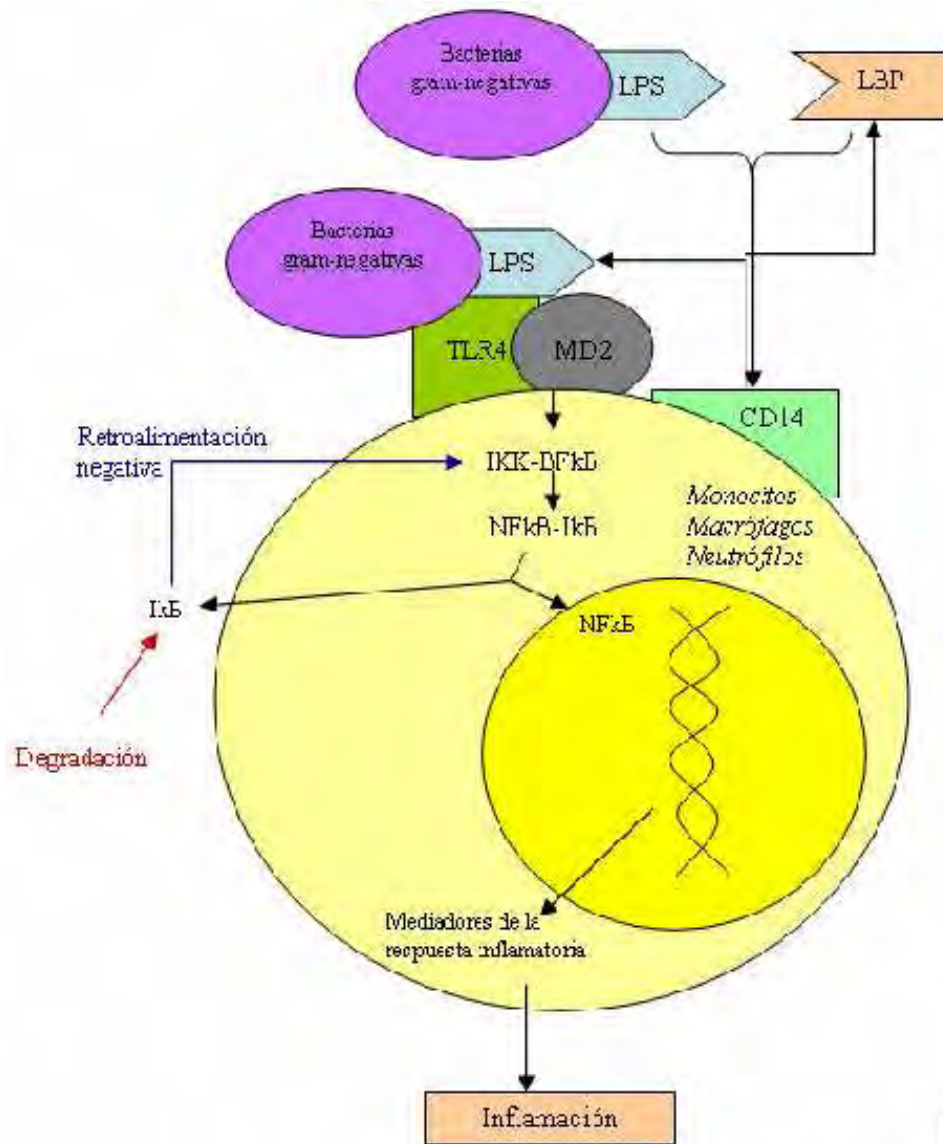
El LPS induce la transcripción genética y la subsecuente expresión de mediadores inflamatorios. El LPS se une a la proteína ligadora de LPS (LBP) en el

plasma. Una vez unido es presentado al receptor de superficie CD14 del monocito, donde interactúa con el receptor de transducción transmembranal de señal. El complejo de receptor similar a Toll 4 (TLR4) y la proteína accesoria MD-2 y la unión del LPS activan varias vías de señales intracelulares como el factor kB nuclear cinasa (disociado en I κ B kinasa o IKK y en el factor nuclear kB o NFkB) y tres proteincinasas activadas por mitógeno (MAPK). Estas vías fosforilan y activan varios factores de transcripción como el NFkB/proteínas rel, proteína activadora 1 (AP-1) y factor-interleucina-6 nuclear (NF-IL-6). Finalmente esto da lugar a la inducción genética rápida y a la expresión de mediadores inflamatorios (citocinas, quimocinas, mediadores de lípidos, sintetasa inducible de óxido nítrico, enzimas y moléculas de adhesión). Otras formas mediante las cuales el LPS induce la transcripción genética y la expresión de mediadores inflamatorios es por mecanismos TREM-1 (receptores disparador expresados en las células mieloides), canales transmembranales de potasio en macrófagos y proteínas intracelulares citoplasmáticas Nod 1 y Nod 2.^{12,23,24}

La transcripción genética está controlada por factores de transcripción, de éstos los que se asocian a la activación de un gen alterado en la sepsis son la AP-1, NF-IL-6 y NFkB. Este último es un factor de transcripción generalizado, importante para la función normal del sistema inmune, es decir, modula la activación necesaria de genes para la respuesta inmune rápida. La producción incrementada o activación prolongada del NFkB resulta en la sobre-expresión de proteínas mediadoras y las complicaciones clínicas conocidas de la sepsis. El NFkB está presente en el citoplasma en forma inactiva (por su unión con una proteína inhibidora llamada I κ B). Se activa, mediante su fosforilación o eliminación del factor inhibidor en las células, por estímulos inflamatorios asociados al LPS (citocinas, ERO's, activadores de proteincinasa C, virus, luz UV y radiación ionizante). Al mismo tiempo que produce las proteínas mediadoras, el NFkB también crea I κ B, lo que le da la capacidad de retroalimentación negativa. La activación del NFkB está en estrecha relación con la sepsis, debido a que la activación de éste es regulada por el estrés oxidativo. Es importante hacer notar que a mayor grado de activación del NFkB existe una mayor tasa de mortalidad. El LPS puede inducir la síntesis de citocinas anti-inflamatorias como la IL-10 que bloquea la activación del NFkB y la regulación del factor de transcripción.^{12,21}

Tras la disociación del I κ B y el NFkB, la tioredoxina (importante en la homeostasis de la redox) reduce al NFkB permitiendo que se una al ADN. Se ha demostrado el papel doble de la tioredoxina en la regulación del NFkB, debido a que en el citoplasma, comparado con el núcleo, la tioredoxina interfiere con la señal de las kinasas I κ B y bloquea la degradación del I κ B. Esto es importante debido a que la translocación del NFkB al núcleo celular es posible sólo cuando el I κ B es degradado. El NFkB ahora es capaz de unirse a la secuencia de genes e iniciar la transcripción, traducción y síntesis de proteínas. Comprender qué genes contienen secuencias específicas con áreas de unión al NFkB en sus regiones promotoras permite identificar los posibles síntomas que se presentan tras una respuesta inflamatoria en la sepsis. Algunos de estos genes son citocinas y factores de crecimiento (factor de necrosis tumoral α , IL-1 β , -2, -6 y -12, interferón- β , factor de crecimiento endotelial vascular), quimocinas (IL-8, crecimiento relacionado a oncogenes, células T), células de adhesión molecular (selectina-E, molécula intercelular de adhesión celular 1, molécula de adhesión vascular celular 1), enzimas (sintetasa de óxido nítrico tipo II, fosfolipasa A2), inmunoreceptores (factor tisular IL-2, complejo de histocompatibilidad mayor clase I) y proteínas de fase aguda (proteína ligadora de LPS, proteína C reactiva),

sin embargo aunque contengan estos sitios de unión a NFκB no significa que estén regulados por éste. Las citocinas tienen retroalimentación negativa sobre la continuación de transcripción de genes por la NFκB.^{12,21}



LPS. Lipopolisacarido
LBP. Proteina ligadora de LPS

PROBLEMA

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

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

Se desconoce con certeza el grado de estrés oxidativo que se presenta en los pacientes con sepsis abdominal, no existen reportes bibliográficos en la literatura formales al respecto, sin embargo resultados de un estudio preliminar aportó datos que orientan a una elevación de estas concentraciones en los pacientes con sepsis abdominal ,sin embargo no hay reportes de la disminución estas sustancias con la resolución del proceso séptico por lo que es necesario realizar estudios exploratorios, a largo plazo, para determinar tanto la presencia del mismo como su implicación en el pronóstico de esta patología y de encontrar relación proponer en estudios posteriores manejo con antioxidantes, así como para la búsqueda de marcadores directos o indirectos en la respuesta oxidativa sistémica y su relación con la comorbilidad de los pacientes

JUSTIFICACIÓN

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

Sin embargo, dada la complejidad que representa la evolución de estos pacientes, se requiere encontrar la correlación existente entre la medición de reactantes medidores de estrés oxidativo y los estudios bioquímicos usualmente utilizados para valorar la severidad de la sepsis, así mismo con la evolución clínica. En esta unidad hospitalaria existen investigaciones previas sobre esta misma línea, ya que es una unidad de concentración en donde se manejan pacientes sépticos y se pueden monitorizar su evolución postoperatoria.

OBJETIVOS

Reportar el grado de estrés oxidativo y/o su remisión al año en pacientes que tuvieron sepsis abdominal

Identificar las concentraciones de nitritos como indicador de estrés oxidativo presente en pacientes con sepsis abdominal.

Determinar momento indicado de intervención para disminuir el grado de estrés oxidativo en pacientes con sepsis abdominal

HIPÓTESIS

La concentración de nitritos la cual mide el grado de estrés oxidativo, en pacientes con sepsis abdominal, está relacionado con su evolución clínica y es menor en pacientes con resolución de proceso séptico.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio

- Observacional
- Longitudinal
- Ambispectivo
- Analítico

UNIVERSO DE ESTUDIO.

Pacientes operados con sepsis abdominal en el Hospital Regional "1º de Octubre" ISSSTE, hospitalizados en el servicio de Cirugía General o Urgencias Adultos durante el periodo de enero-febrero 2007;

CRITERIOS DE INCLUSION.

- Pacientes con antecedente de sepsis abdominal a quienes se les efectuó medición previa de niveles de nitritos.
- Pacientes con diagnóstico actual de sepsis abdominal de acuerdo a los criterios establecidos. (anexo)
- Carta de consentimiento informado

CRITERIOS DE EXCLUSION.

- Pacientes que durante las últimas semanas (2) hubieran ingerido medicamentos antioxidantes (vitamínicos)
- Pacientes que se encontraban bajo programas de entrenamiento físico intenso o que hayan realizado ejercicio físico extenuante durante la última semana
- Pacientes ostomizados
- Pacientes con tabaquismo intenso (15 cigarrillos/día)
- Pacientes con etilismo (más de 450ml al día)
- Pacientes cuya muestra arterial o venosa se encontrara con datos macroscópicos de hemólisis.

DESCRIPCIÓN OPERATIVA DEL ESTUDIO:

Se citó a pacientes incluidos en protocolo previo, concertando cita telefónica, se realizó toma de muestra sanguínea venosa para determinación de nitritos.

Los estudios solicitados en estos pacientes fueron: biometría hemática, química sanguínea, electrolitos séricos, tiempos de coagulación, gasometría, pruebas de funcionamiento hepático, tomados por laboratorio de urgencia.

Se sometieron a cirugía a todos los pacientes.

Una vez egresado de quirófano y durante las 2 hr posteriores a la cirugía se tomaron muestras de sangre venosa en tubo seco. Se dejaron reposar a temperatura ambiente por un lapso de 30 min. y posteriormente se centrifugaron, tomándose el suero obtenido y colocándose en tubos EPENDORF los cuales se mantenían en congelación hasta ser llevados al laboratorio con la rotulación adecuada del tubo y la tapa con el número correspondiente de cada paciente. Se transportaron en contenedor con temperatura a 2°; durante las 24 hr siguientes a su obtención, al laboratorio de investigación de estrés oxidativo de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, en termo con congelante, donde se colocaban en refrigerador REPCO a -70°C a -80°C para posteriormente procesar *nitritos* como marcadores de estrés oxidativo.

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

A. Curva Estándard

1. Reactivos

- NaNO₂ utilizándolo a las siguientes concentraciones en forma progresiva:

0.069g/mL	0.05175µg/mL
6.9µg/mL	0.0345µg/mL
5.175µg/mL	0.0173µg/mL
3.45µg/mL	0.0069µg/mL
1.73µg/mL	0.005175µg/mL
0.69µg/mL	0.00345µg/mL
0.5175µg/mL	0.00173µg/mL
0.173µg/mL	0.00069µg/mL
0.069µg/mL	

Por triplicado alícuotas de 250µl

- Sulfanilamida 1% (p/v) en H₃PO₄ 5% (v/v)
 - N-(1-Naphthyl) Ethylenediamida 0.1% (p/v) en H₃PO₄ 5% (v/v)
- Con estas diluciones, se midió la absorbancia de las siguientes concentraciones de nitrato de sodio para realizar una curva control. Se tomó 250µL de cada una de las concentraciones anteriores

2. Aplicar 50 µl de Sulfanilamida a 250 µl de H₂O 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 A₅₅₄ como blanco.
3. Aplicar 50 µl de Sulfanilamida a 250 µl de NaNO₂ 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 A₅₅₄ de la muestra, y calcular la F(x)=abs. vs. Concentración.

B. Determinación de nitritos

1. Agregar 40 µl de E. coli 1775 por tubo. Se incubó 1 hora a 37°C a 100rpm.
2. Se centrifuga a 3,000 rpm por 5 minutos, se agregan 250 µl del sobrenadante en la celda de lectura, aplicar 250 µl de Sulfanilamida a

250 μl de NaNO_2 e inmediatamente después 250 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.

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

RESULTADOS

En el estudio se incluyeron 11 pacientes del estudio piloto previo para la toma de control de nitritos en sangre venosa, en el periodo de diciembre 2006 y febrero de 2007 y se incluyeron 20 pacientes tratados por primera vez en el Hospital Regional Iro. De Octubre y diagnosticados como sepsis abdominal durante este mismo periodo.

Cuadro 1.	
Características basales de los pacientes control	
Parámetro	Frecuencia (n=11)
Sexo	
Masculino	5 (45.4%)
Femenino	6 (54.5%)
Edad	55.3 ± 24.5

Cuadro 2.	
Características basales de los pacientes sépticos	
Parámetro	Frecuencia (n=20)
Sexo	
Masculino	7 (35%)
Femenino	13 (65%)
Edad	54.15 ± 14.32

Los diagnósticos previos de los pacientes control, actualmente sanos fueron en orden de frecuencia: apendicetomía, adherenciolisis, colocación de parche de Graham y pancreatitis. (cuadro 3).

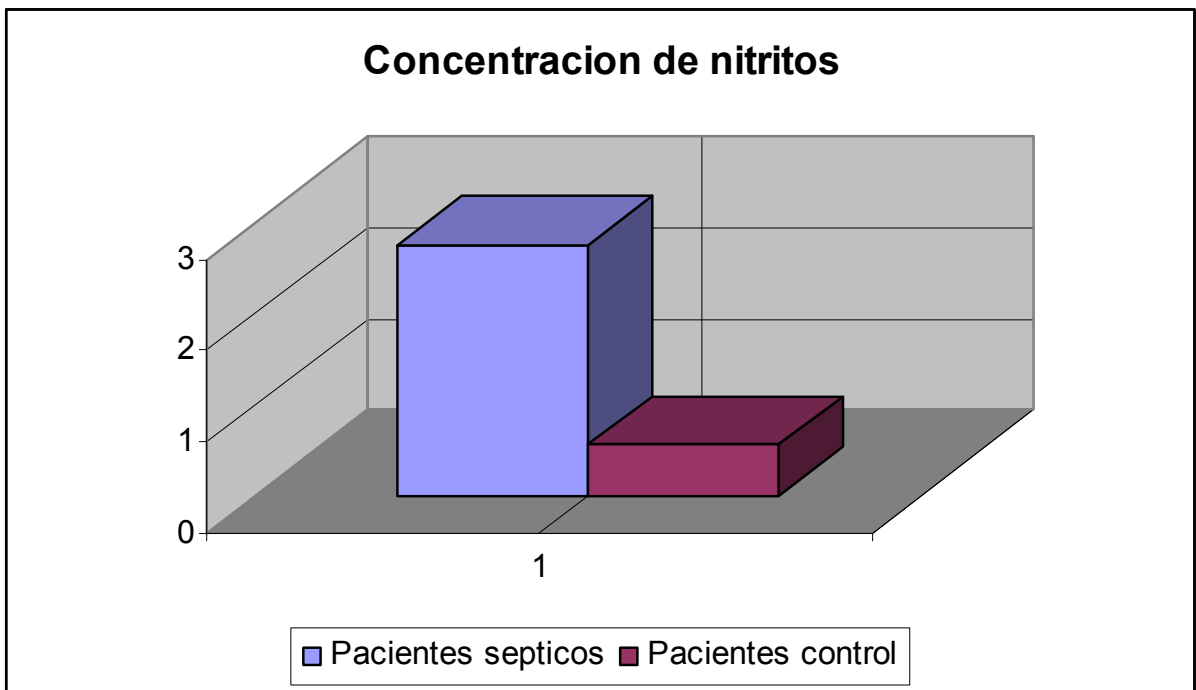
Cuadro 3.	
Diagnósticos previos de pacientes control	
<i>Diagnóstico</i>	<i>Número de pacientes (n=11)</i>
PO apendicetomía	7 (63.6%)
PO adherenciolisis	2 (18.1%)
PO Parche de Graham	1 (9.09%)
Pancreatitis	1 (9.09%)

Los diagnósticos de los pacientes incluidos sépticos se encontraron apendicitis complicada, fístula enterocutánea, pancreatitis aguda grave, oclusión intestinal absceso pélvico residual, absceso hepático e isquemia intestinal.

Cuadro 4.	
Diagnósticos principales de pacientes sépticos	
<i>Diagnóstico</i>	<i>Número de pacientes (n=20)</i>
Apendicitis complicada	7 (35%)
Fístula entero-cutánea	4 (20%)
Pancreatitis aguda grave	4 (20%)
Oclusión intestinal	2 (10%)
Absceso pélvico residual	1 (5%)
Absceso hepático	1 (5%)
Isquemia intestinal	1 (5%)

Cuadro 4. Estado de estrés oxidativo de los pacientes

Parámetro	Promedio \pm DE	Rango
Nitrito venoso (μ g/mL) en pacientes control	6.165 \pm .2972	0.087-0.981
Nitrito venoso (μ g/mL) en pacientes sépticos	2.7415 \pm .74	1.2309-4.0081



DISCUSION

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

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

En el intento de determinar un parámetro en la medición de nitritos como marcador o como indicador de gravedad o de sepsis abdominal, se han realizado trabajos en los cuales 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, igualmente se ha descartado la medición en liquido peritoneal.

El tiempo de recuperación de la oxidación normal no se encuentra bien documentando, ya que existen múltiples estímulos que lo pueden modificar.

En nuestro estudio se observó que los niveles de nitritos a 1 año de control inicial se compara con niveles tomados en pacientes sanos. Esto puede traducir a que después de éste tiempo un paciente que padeció un cuadro de sepsis abdominal ya se encuentra a nivel celular sin datos de estrés oxidativo.

CONCLUSIONES

Teniendo como punto de partida la activación de los macrófagos por el estímulo séptico, se liberan entre otros mediadores los radicales libres, que por un lado van a activar al endotelio vascular y por otro van a estimular a los polimorfonucleares. Simultáneamente, el endotelio vascular libera factor activador de plaquetas e interleucina-8, que también tienen la función de estimular a los PMN. A partir de este instante, los PMN son atraídos en oleadas, y comienzan a liberar radical superóxido que va a perpetuar esta reacción, y la autoamplifica.

El gran número de PMN que se adhieren y se agregan en la microcirculación es consecuencia de la liberación excesiva de radical superóxido. Y justamente en esto radica su poder bactericida. La consecuencia final de este complejo proceso es un bloqueo de la microcirculación por la agregación de leucocitos, eritrocitos y plaquetas que provocan fenómenos de edema, hemorragia, trombosis con paro microcirculatorio, daño mitocondrial, disminución de la producción de radicales de alta energía, daño celular y por último muerte.

1. En este estudio los resultados indican que las concentraciones de nitritos en pacientes con antecedente de sepsis abdominal de un año, se encuentran similares en pacientes no sépticos. A pesar de que se ha comprobado que diversas enfermedades pueden modificarlos.
2. Se debe de continuar con ensayos clínicos controlados para poder implementar medidas terapéuticas ya que no se puede hablar de radicales libres en la sepsis sin comentar lo relativo al uso de antioxidantes. Los más ensayados y utilizados son el alfa tocoferol (vitamina E) -importante lípido soluble- y la vitamina C, poderoso donador de electrones, que reacciona con el radical superóxido, el peróxido y el hidroxilo. En relación con la vitamina C, existe gran polémica, pues los estudios experimentales y en humanos señalan que, aunque tiene efecto antioxidante, en presencia de iones de hierro puede tener efecto pro-oxidante.
3. En la actualidad este tema es objeto de controversia, en el cual queda mucho por decir, pues es necesario puntualizar las dosis, vías de administración y la fase de la sepsis donde sería más conveniente su utilización. Al parecer no queda duda de que los antioxidantes pueden convertirse en una terapéutica alternativa muy importante, que permitirá limitar la gran avalancha del estrés oxidativo que se produce en la sepsis. Por lo tanto, actuarían inmuno modulando la respuesta inflamatoria sistémica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. **Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs.** Crit Care Med 2001; 29: 1303-10.
2. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. **Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis.** Chest 1992; 101: 1644-55.
3. Hotchkiss RS, Karl IE. **The pathophysiology and treatment of sepsis.** N Eng J Med 2003; 348: 138-150.
4. Chávez-Pérez JP. **Sepsis abdominal.** Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int 2002; 16: 124-135.
5. Wheeler AP, Bernard GR. **Treating patients with severe sepsis.** N Eng J Med 1999; 340: 207-14.
6. Barlett JG. **Sepsis intraabdominal.** Med Clin North Am 1995; 79: 595-612.
7. Shands JW. **Empiric antibiotic therapy of abdominal sepsis and serious perioperative infections.** Surg Clin North Am 1993; 73: 291-306.
8. Malangoni MA. **Evaluation and management of tertiary peritonitis.** Am Surg 2000; 66: 157-61.
9. Padilla C. **Medición de estrés oxidativo en pacientes con sepsis abdominal.** Tesis de Postgrado, 2005: 1-50.
10. Aparicio R. **Medición de estrés oxidativo en pacientes no sépticos.** Tesis postgrado 2006: 1-34.
11. Goodyear-Bruch C, Pierce JD. **Oxidative stress in critically ill patients - CE Article.** American Journal of Critical Care 2002 (11): 543-571
12. Macdonald J, Galley HF, Webster NR. **Oxidative stress and gene expression in sepsis.** Br J Anaesth; 2003 Feb; 90(2):221-32.
13. Bulger EM, Maier RV. **Antioxidants in critical care.** Arch Surg 2001. 36: 1201-8.
14. Oldham KM, Bowen PE. **Oxidative stress in critical care: Is antioxidant supplementation beneficial?** American Dietetic Association. Journal of the American Dietetic Association. Chicago: Sep 1998. Vol. 98, Iss. 9; pg. 1001-8.
15. Borovic S, Meinitzer A, Loncaric I, Sabolovic S, Wildburger R, Tillian M, et al. **Monitoring influence of surgical stress on formation of hydroxyl radicals in tumor bearing rats by measuring salicylic acid metabolites.**
16. Larrondo-Muguercia H, León-Pérez R. **Estrés oxidativo y sepsis** Rev Cubana Invest Biomed 2000; 19:199-201.
17. Guo RF, Riedemann NC, Laudes IJ, Sarma VJ, Kunkel RG, Dille KA, et al. **Altered neutrophil trafficking during sepsis** The Journal of Immunology 2002; 126: 307-314.
18. Sánchez-Álvarez R, López-Janer N, Leyva L, Albuérne Y, Broche-Valle F, Peña-Sánchez M, et al. **Caracterización de indicadores bioquímicos de estrés oxidativo en pacientes quemados muy graves** Rev Cubana Invest Biomed 2000; 19: 164-67.
19. Barreiro E, Comtois AS, Mohammed S, Lands LC, Hussain SN. **Role of heme oxygenases in sepsis-induced diaphragmatic contractile dysfunction and oxidative stress.** Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2002; 283: 476-84.
20. Wesley-Ely E, Kleinpell RM, E Goyette R. **Advances in the understanding of clinical manifestations and therapy of severe sepsis: An update for critical care nurses.** Am J Crit Care 2003; 12: 120-136.
21. Pritts T, Hungness E, Wang Q, Robb B, Hershko D, Hasselgren P. **Mucosal and enterocyte IL-6 production during sepsis and endotoxemia-role of transcription factors and regulation by the stress response.** Am J Surg 2002; 183: 372-383.
22. Arnalich F, López-Maderuelo D, Codozeo R, Solís Garrido M, Capiscol C, Fernández-Capitán C, et al. **Interleukine-1 receptor antagonist gene polymorphism and mortality in patients with severe sepsis.** Clin Exp Immunol 2002; 127: 331-336.
23. Nadel S. **Helping to understand studies examining genetic susceptibility to sepsis** Clin Exp Immunol 2002; 127: 191-192.

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