



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**

**EFFECTOS DE ANTIOXIDANTES EN EL ESTRÉS
OXIDATIVO EN PACIENTES CON SEPSIS
ABDOMINAL**

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

Presenta:

DR. ANTONIO RIVERA DE LA VEGA

Asesor de Tesis:

DR. GERARDO DE JESÚS OJEDA VALDÉS

México Distrito Federal, Febrero 2009



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 CIRUGÍA.
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CIRUGÍA
GENERAL.

DR. RICARDO JUÁREZ OCAÑA.
COORDINADOR DE CAPACITACION DESARROLLO E
INVESTIGACION.

DR. JOSÉ VICENTE ROSAS BARRIENTOS.
JEFE DE INVESTIGACION.

DR. GERARDO DE JESÚS OJEDA VÁLDES.
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE
CIRUGIA GENERAL.

ASESOR DE TESIS.

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A mis padres porque siempre han estado junto a mí, demostrando apoyo incondicional en mi desarrollo como persona así como en el terreno profesional, siendo siempre referencia para la excelencia en todos los ámbitos de mi vida, a mi hermano por ser muestra de lo que se puede lograr con una base de valores obtenida en el seno de una familia cuyo objetivo siempre ha sido la excelencia en toda la extensión de la palabra. A Rubicelia por ser la persona que me ha permitido superación y complemento personal, profesional y ha sido punto de apoyo para lograr lo que ahora soy.

Agradecimientos para todos aquellos médicos adscritos del servicio de cirugía general que han sido parte importante de mi formación con sus enseñanzas, experiencia y calidad personal: Dr. Alejandro Tort Martínez, Dr. Horacio Olvera, Dr. Luis Fabián Cuevas, Dr. Enrique Nuñez, Dr. Jose Manuel Echavarrí, Dr. Parra, Dr. Pichardo, Dr. Eduardo Torices, Dr. Fernando Ugalde, Dr. Eduardo Becerril, Dra. Leticia Domínguez. A mis amigos de residencia en especial a aquellos pertenecientes mi generación: Dr. Erick de la Rosa, Dr. Romel Flores, Dr. Mario González May y Dr. Rodrigo Hernández, a ellos que en base a la convivencia diaria y al compartir 4 años de nuestras vidas han complementado mi formación personal y profesional. Gracias por su apoyo y amistad.

INDICE

RESUMEN	5
INTRODUCCION	7
PROBLEMA	23
JUSTIFICACION	24
OBJETIVO GENERAL	25
OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
HIPOTESIS	25
MATERIAL Y METODOS	26
RESULTADOS	31
DISCUSION	35
CONCLUSIONES	36
ANEXOS	37
BIBLIOGRAFIA	40

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. Se realizó un estudio observacional, comparativo, longitudinal y prospectivo para determinar el comportamiento de los niveles de nitritos en pacientes con sepsis abdominal que recibieron tratamiento con antioxidantes (vitamina A y C) y un grupo control para correlacionar dichos niveles con los hallazgos clínicos. Se incluyeron 20 pacientes en este estudio siendo 10 pacientes grupo control y 10 pacientes recibiendo tratamiento antioxidante, con antecedente de diagnóstico de sepsis de origen abdominal sometidos a procedimientos quirúrgicos de urgencia en el Hospital Regional 1° de Octubre. Se determinaron nitritos de muestras venosas.

Se encontró una diferencia entre los promedios de valores de nitritos comparable con niveles de nitritos entre pacientes con tratamiento antioxidante y pacientes control, demostrando una reducción en pacientes con antioxidantes a corto plazo que no fue significativa, por lo que esto nos sugiere realizar ensayos clínicos a largo plazo.

PALABRAS CLAVE: Estrés oxidativo, sepsis abdominal, nitritos, antioxidantes.

SUMMARY

The oxidative stress is a representation of cellular damage (acute or chronic) and 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 oxidative stress in these patients with abdominal sepsis and in healthy patients. It has been developed an observational, comparative, prospective and longitudinal studie in order to determine the behavior of nitrite levels in patients with abdominal sepsis with and without antioxidant treatment. It includes a total of 20 patients, ten were of control group, and ten received antioxidant treatment, both groups were someted to surgery procedure in Hospital Regional 1° de Octubre. The results show a difERENCE between the average of nitrite values in both groups. The results sugest tha more clinical trial have to bee done in the future with longer groups and a larger follow up.

KEY WORDS: Oxidative stress, abdominal sepsis, nitrites, antioxidants.

INTRODUCCIÓN

La sepsis refleja un proceso sistémico complejo en que las alteraciones ocurren en cada sistema metabólico y regulador y estas han sido estudiadas. Los datos clínicos demuestran activación de cascadas inflamatorias y antiinflamatorias organizadas en un evento cercano simultáneo, con la necrosis aumentada y apoptosis en de células inmunes en circulación, supresión inmune, inducible de síntesis de óxido nítrico con activación de vasodilatación asociada, receptor de adrenérgicos con regulación baja, resistencia a la insulina, perturbaciones en microcirculación, trastorno del órgano-sistema, cambios en la preferencia sintética hepática, y en algunos casos trastornos mitocondriales. ¹

Hay amplia evidencia para apoyar la noción que las especies de oxígeno reactivo (ROS) se produce en el exceso durante el sepsis y ese ROS participan en el daño celular extendido dentro de los órganos vitales. Bajo las condiciones normales, la fuente mayor de intracelular para la formación de ROS es la mitocondria, que explica por qué este organelo está lleno de los antioxidantes. Sin embargo, a través de los mecanismos inciertos, se inhibe el transporte de electrón de mitocondrial durante la fase aguda de sepsis, contribuyendo por eso a la utilización de oxígeno ineficaz y aumentos en la producción de ROS, particularmente el radical superóxido (O₂⁻). La formación de ROS excesiva, a su vez, vacía la reserva de antioxidantes intracelulares, sobre todo el glutatión. El desequilibrio resultante entre la formación de ROS y su aclaración en los pacientes extremadamente enfermos, normalmente llamado el "estrés oxidativo", resultando en daño oxidativo a casi todos los componentes celulares, incluso las membranas del lípidos, proteínas, y ADN. ²

A la fecha, ya se sabe que la oxidación ocurre en paciente crítico, no sólo existe peroxidación lipídica para explicar las disfunciones orgánicas, como se pensó en la década de los 80, sino que también existe la oxidación de proteínas como mecanismo de lesión de estructuras celulares y mecanismo de disfunción orgánica. Es claro que los mecanismos antioxidantes biológicos no son sólo vitaminas A, C y

E; los cuales junto con estas últimas también se afectan en enfermedades agudas. La única forma de conocer que está pasando en estos pacientes es midiendo tanto oxidantes como antioxidantes con el fin de conocer la sensibilidad y especificidad de cada marcador y con el fin de determinar la intervención terapéutica con mejor resultado para pacientes con sepsis. Con base en esos hallazgos se podrá plantear qué tipo de pacientes y para qué patología pueda servir la terapia antioxidante. Aunque la Medicina Basada en la Evidencia no acepte que actualmente se deba hacer tratamientos con antioxidantes o precursores en pacientes con sepsis.

ANTECEDENTES

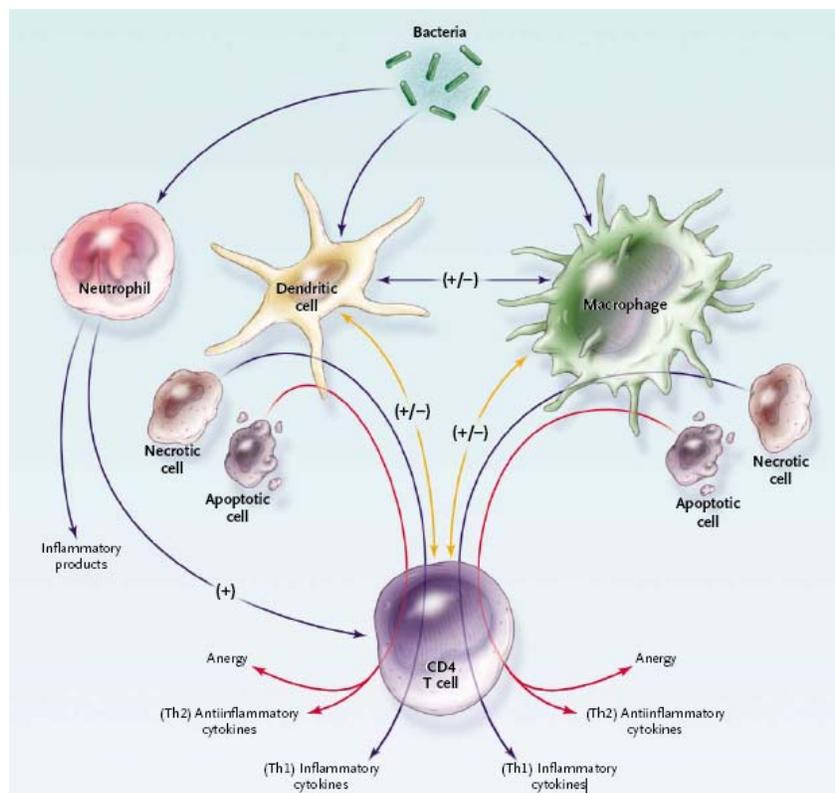
Hasta 1992 la sepsis y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) eran considerados como el mismo padecimiento, éste tenía como síntomas el aumento de la temperatura, inflamación, alteraciones en el ritmo cardíaco y respiratorio y cambios en el conteo y composición de los glóbulos blancos. 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.^{3,4}

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.^{5,6}

Durante la sepsis existe la activación de células TCD3 son programadas por la secreción de citocinas con cualquier o ambos perfiles antagonistas distintos. La secreción de citocinas inflamatorias (tipo 1 células T ayudador)

Ellos secretan cualquier citosina con inflamatorios (el tipo 1 células T ayudadoras) propiedades, incluso TNFa, interferón , e interleucina- 2, o citocinas con el antiinflamatorio (el tipo 2 células T ayudadoras las propiedades - por ejemplo, interleucina - 4 e interleucina-10 (Fig. 1).



Los factores que determinan si CD4 que las células de T tienen Th1 o contestaciones de Th2 son desconocidas pero pueden influenciarse por el tipo de patógeno, el tamaño del inóculo bacteriano, y el sitio de infección.

Las células mononucleares de los pacientes con quemaduras o trauma han reducido niveles de citocinas de Th1 pero los niveles aumentados del Th2 citocinas e interleucina-4 e interleucina-10, y la inversión de la respuesta de Th2 mejora la supervivencia entre los pacientes con el sepsis.

Otros estudios han demostrado que el nivel de interleucina se aumenta en los pacientes con el sepsis y que este nivel predice la mortalidad.

Igualmente, la isquemia es en principio fuente de daño y necrosis celular, el agotamiento de las reservas de ATP intracelular en un tejido hipóxico desencadenan una cascada de efectos deletéreos para la célula. La incapacidad para el mantenimiento del balance iónico , modificaciones en el equilibrio del calcio, disfunción mitocondrial , ruptura de lisosomas con liberación de enzimas , activación del sistema enzimático de la fosfolipasa A₂ y enzimas vinculadas al metabolismo del ácido araquidónico. En esta fase de isquemia se generan especies reactivas de oxígeno en exceso o se alteran cualitativa y cuantitativamente las defensas antioxidantes.

A la fase de isquemia sigue una fase de reperfusión cuando el cirujano , al hacer la laparotomía, libera a los órganos abdominales del efecto producido por el aumento de la presión intraabdominal , también se provoca este efecto cuando se procede a la reanimación con líquidos con el objetivo de mejorar el riego de la circulación esplácnica y por tanto de la perfusión a los diferentes tejidos y órganos en la cavidad intraabdominal.

La reperfusión, factor esencial en la recuperación del tejido se acompaña paradójicamente de efectos de injuria celular que pueden resumirse como sigue:

- ❖ Generación de especies reactivas de oxígeno con activación de sistemas enzimáticos calcio dependientes y que además se asocia al incremento en la permeabilidad celular al calcio.
- ❖ Acumulación de leucocitos y plaquetas con fenómenos de coagulación intravascular y edema intersticial que comprometen la perfusión .
- ❖ Respuesta inflamatoria aguda mediada por los polimorfonucleares neutrófilos y los macrófagos tisulares.

Sistema Xantina-oxidasa.

La activación del sistema de la enzima xantino–oxidasa es considerado como una importante fuente endógena de radical superóxido en los tejidos reperfundidos con un intervalo variable de isquemia ; en la mayoría de los tejidos este sistema se

encuentra en forma de xantina –deshidrogenasa NAD dependiente (XD) y puede convertirse en la forma oxidada (XO). La acumulación de hipoxantina y xantina (sustratos de la xantino oxidasa) por degradación del ATP durante la fase de isquemia , el aporte de oxígeno al reperfundirse el tejido y la conversión de la xantino-deshidrogenasa en xantino-oxidasa explican el incremento en las concentraciones de ácido úrico , anión superóxido y peróxido de hidrógeno inmediatamente después de la reperfusión del tejido.

Algunos autores sugieren que los niveles de la enzima entre 8-10 % son suficientes para generar concentraciones citotóxicas del anión superóxido aún sin que se incremente la conversión a expensas de la forma de xantino deshidrogenasa.

Aunque no se ha probado de forma concluyente el hecho de que la conversión de la XD a XO toma solo 10 segundos en el intestino, 8 minutos en el corazón y 30 minutos en el hígado, riñón y pulmón, esto podría explicar la susceptibilidad diferente de estos órganos al daño tisular mediado por la isquemia-reperfusión.

El mecanismo de daño por radicales libres derivados del oxígeno ha sido propuesto como elemento importante de lesión. En algunos estudios se ha encontrado que 30 minutos después de abolida el aumento de la presión intraabdominal, cantidad significativa de malondialdehído (MDA), un metabolito del proceso de peroxidación lipídica, es liberado desde el intestino, el bazo y el hígado, así mismo niveles incrementados de MDA son hallados en el pulmón, un órgano localizado a distancia de la cavidad abdominal.

El hallazgo de especies reactivas de oxígeno (EROS) en el pulmón después de la liberación de la cavidad abdominal es un hecho interesante pues reafirma el rol potencial del MDA en el desarrollo de edema pulmonar después del proceso de isquemia-reperfusión durante la cirugía abdominal.

El metabolismo del Ac. Araquidónico liberado por acción de la enzima fosfolipasa A₂ (que a su vez es activada por el calcio y los fosfolipoperóxidos) está involucrado en la generación y liberación de radicales peroxilo e hidroxilo, así como mono y dihidroperóxidos, subproductos de las reacciones catalizadas por la ciclo-oxigenasa, lipo-oxigenasa y prostaglandina hidroperoxidasa.

Al inicio de la reperfusión, el oxígeno molecular que llega se vuelve sustrato de la XO residente en la superficie de las células del endotelio vascular dando lugar a EROS y provocando daño local, luego el endotelio dañado se vuelve la base para que los neutrófilos se adhieran y liberen más radicales oxidantes. Esta hipótesis puede resumirse diciendo que la célula endotelial es el "disparador" y el neutrófilo "amplifica" el fenómeno oxidante y el daño tisular.

La lesión de las células endoteliales activa el complemento, iniciando de esta manera el fenómeno de la quimiotaxis y liberación de opsoninas que junto al incremento de la permeabilidad del endotelio vascular determinan la llegada de los granulocitos y el comienzo de la fagocitosis bacteriana. La rápida llegada de los neutrófilos, unas 4 horas aproximadamente, seguida de los macrófagos constituye probablemente la principal defensa de la cavidad abdominal frente a la contaminación masiva.

Los leucocitos como todas las células del organismo poseen la mayoría de los constituyentes como lípidos, glucógeno, aminoácidos, ácidos nucleicos, vitaminas, coenzimas y metales trazas como zinc. Los granulocitos y monocitos-macrófagos contienen además una importante batería enzimática, entre ellas la fosfatasa alcalina y la mieloperoxidasa.

Fagocitosis:

Este proceso biológico es de gran importancia en la destrucción de bacterias extracelulares piógenas.

Se realiza en las siguientes etapas:

- **Quimiotaxis:** Debido a la liberación de aminas vasoactivas (histamina y serotonina) desde los basófilos y las células cebadas en el sitio de la injuria se produce un cambio en el flujo sanguíneo y en la permeabilidad de la microcirculación local, que se traduce en una mayor adherencia y marginación de los polimorfonucleares neutrófilos en el endotelio vascular. Por otra parte también se liberan factores quimiotácticos endógenos derivados del sistema del complemento(C3a, C5a, C5-C7), coagulación, kininas, linfoquinas y exógenos como productos bacterianos y virales (proteinasas, lípidos).

- Reconocimiento del antígeno e ingestión
- Liberación de factores antibacterianos: Las células vierten el contenido de sus gránulos primarios y secundarios, liberando la batería de enzimas proteolíticas e hidrolíticas al interior del fagosoma. Al mismo tiempo, se sintetizan compuestos microbicidas dependientes del oxígeno o radicales libres, siendo los principales el radical superóxido, peróxido de hidrógeno, haluros como hipoclorito y el hidroxilo; otros productos de secreción son los metabolitos derivados del Ac. Araquidónico.

Detoxificación de metabolitos productos de la fagocitosis: Los productos bactericidas de las células fagocíticas pueden ser liberados fuera del fagosoma hacia el citosol o al medio extracelular produciendo daño tisular; sin embargo estas células están dotadas de sistemas detoxificantes como la catalasa y el glutatión reducido que metaboliza el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. ⁸

La administración suplementaria de sustancias antioxidantes, entre las cuales se encuentran las vitaminas C, A y E, el selenio, el zinc y la nacetilcisteína fueron consideradas en el consenso canadiense, encontrando evidencia a favor de su uso en los pacientes con SDRA, con reducción de los días de oxígeno suplementario (13,6 vs. 17,1 P = 0,078), menor tiempo de ventilación mecánica (9,6 vs. 13,2 P = 0,27), menor tiempo de estancia en UCI y menos falla de órganos, sin embargo el trabajo tiene la limitación de evaluar de manera conjunta diferentes tipos de sustancias que han sido consideradas tienen un efecto antioxidante, sin permitir un análisis específico del beneficio individual.

De otro lado, cuando se evalúa la evidencia con respecto al beneficio de la terapia en poblaciones mixtas de pacientes críticos, existe una tendencia a la disminución de la mortalidad sin un beneficio estadísticamente significativo en la estancia y la tasa de infección. Estos datos forman parte del metanálisis desarrollado por Heyland como parte del mismo consenso con una reducción de la mortalidad (RR 0,65 con un IC 95 % 0,53-0,80). Se resalta sin embargo la heterogeneidad en los tipos de antioxidantes empleados, las diferentes combinaciones que se emplearon y las dosis que fueron suministradas como parte de la terapia estableciendo un nivel de evidencia II. ⁹

Se ha estudiado el efecto de la vitamina E sobre los macrófagos peritoneales y algunos investigadores concluyen que la adición de ésta al fluido peritoneal previene la peroxidación lipídica; por otro lado hay autores que plantean que a pesar del probado efecto antioxidante de la vitamina E, esta puede causar cambios en la permeabilidad del peritoneo con decrecimiento de su efectividad en pacientes en diálisis peritoneal. ⁸

En ese orden de ideas, el poder conocer los mecanismos de lesión intracelular desencadenados por los radicales libres (RL) está ayudando a explicar la aparición de lesión de organelas (mitocondrias, núcleos, DNA, etc.) y de esta manera demostrar la forma de aparición de complicaciones y disfunción de órganos en los pacientes bajo estrés. Además, esta viene siendo la base para la utilización de terapias antioxidantes en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI).

1. Radicales Libres (RL), Bioquímica e Interacciones

a. Integración con óxido Nítrico:

Un RL puede ser definido como una molécula que contenga uno o más electrones no apareados. La fisiopatología de la lesión de RL en el pasado fue basada en la lesión desencadenada por Ion superoxido, hidroxilo y peroxido de hidrógeno; sin embargo, ya se sabe que no solo los RL pueden ser deletéreos oxidando moléculas sino que las Especies Reactivas de Nitrogeno (ERN), las cuales son formadas de la interacción de Oxido Nítrico (ON) con RL 1 pueden en mayor o menor cantidad interactuar con una gran cantidad de moléculas en la célula (lípidos, proteínas, enzimas, etc.)

b. Peroxidacion Lipidica (PL):

El RL en la mayoría de los sistemas biológicos oxidados es el radical superoxido ($O_2\cdot^-$) el cual se encuentra en equilibrio con el radical hidroperoxil ($HO_2\cdot$). La mayor fuente de esos radicales libres es el modesto escape de electrones del retículo endoplasmico y de la fosforilación oxidativa en la membrana mitocondrial. Aunque el $O_2\cdot^-$ es relativamente poco reactivo en comparación con muchos otros

radicales, los sistemas biológicos pueden convertir esta molécula en una especie más reactivas como el radical peroxil ($\text{ROO}\cdot$), alcoxil ($\text{RO}\cdot$) y radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$). Este último puede originarse como resultado de la reacción de Fenton, en la cual un metal en estado oxidado (Fe, Cu, etc.) interactúa con el $\text{O}_2\cdot^-$. El Fe y el Cu son metales iónicos con importancia biológica por la capacidad de interactuar en su forma reducida con moléculas orgánicas como lípidos formando hidroperóxidos y RL que producen reacciones en cadena (peroxidación lipídica-PL) ^{10,11}

c. Oxidación proteica.

Muy probablemente, la razón para que la sola PL no sea la explicación de todas las alteraciones fisiopatológicas de las enfermedades agudas es el desconocimiento de la capacidad de oxidación de proteínas que poseen los RL y las ERN. Las células conformadoras de los diferentes órganos del cuerpo están compuestas por estructuras proteicas específicas para cada función. Cada proteína es elaborada de un determinado número de aminoácidos, los cuales son unidos durante la síntesis proteica en el citoplasma de cada célula. Ya ha sido establecido que aminoácidos como la Tirosina, Fenilalanina, Triptofano, Histidina, Glutamato, Leucina, Valina, Lisina, Prolina, Arginina, Isoleucina, Glicina, Metionina y Cisteína pueden ser oxidados. ¹²

El más reciente avance ha sido el demostrar que en presencia de oxígeno existe reacción en cadena de proteínas con el subsiguiente consumo de oxígeno y la formación de una cadena de 7 o más moléculas. Mientras que en la oxidación lipídica el radical principal es el peroxil, en la oxidación de las proteínas el principal es el radical alcoxil (Alcoxidación proteica) (AP).

Así como la PL deteriora la estructura lipídica de las membranas, la AP deteriora la estructura tridimensional de las proteínas (desnaturalización de proteínas) y altera sus cambios conformacionales.

Algunas de las oxidaciones de proteínas anteriormente descritas pueden ser parcialmente reversibles y de esa forma crear reactivación de la función proteica. Uno de los principales mecanismos de defensa antioxidante en contra de la AP es la conversión de grupos SH-SH (disulfuro) en grupos $-\text{SH}$, permitiéndole a la

proteína recuperar su estructura funcional. Los “thioles (moléculas con radical –SH)” biológicos como la Cisteína y el Glutathione (GSH) ayudados por la vitamina E (Vit-E), pueden mejorar la inactivación de proteínas inducida por oxidación bien sea por una reacción directa con los radicales o en forma indirecta formando uniones reversibles de thioles sobre las proteínas. Este último mecanismo es una reacción reversible y es un paso esencial en proceso de formación de la estructura terciaria de las proteínas durante la síntesis proteica. La oxidación de proteínas no solo altera la capacidad de formación terciaria de las proteínas sino que facilita la fragmentación, polimerización y alteración funcional de tanto proteínas intracelulares como de membrana.^{13,14}

Mecanismos de lesión por oxidación:

Las proteínas oxidadas son más vulnerables a destrucción por parte de los peroxisomas celulares y proteinasas celulares (Ej: ubiquitin proteasomas), de esta forma se ha planteado la teoría de efecto de “señal” o “marcador” por las alteraciones en el estado –SH/S-S de las proteínas.¹² Además, la oxidación de proteínas y enzimas de la membrana mitocondrial durante estados de estrés (sepsis, trauma, isquemia-repercusión, etc.) permiten que haya una alteración en los mecanismos productores de energía y alteración de la permeabilidad mitocondrial, con la consecuente liberación de sustancias tóxicas para la célula (Ca⁺⁺, factor inductor de apoptosis, citocromo c, etc.)¹⁵

Los RL son medidores necesarios para el control de crecimiento celular y para la síntesis de proteínas de shock calientes (HSP), las cuales van a servir como sistemas de defensa evitando la desnaturalización de proteínas durante estados de estrés¹⁶, lo que está por demostrarse es si la AP es un factor importante en estos mecanismos. Lo que sí está claro, es que los RL están implicados en la activación de diferentes factores de transcripción durante estados de estrés, como el Factor de Transcripción de Proteínas de Estrés (AP-1), el Factor de Transcripción Nuclear tipo B (NF-κB) y de la activación de genes de estrés.¹⁷ Estos factores de transcripción son importantes en células inmunológicas y algunas de sus funciones

sobre el DNA son reguladas por los niveles de Selenio y GSH intracelular.^{18,19} Lo que esta por determinarse es en que células del organismo los factores de transcripción tienen mayor influencia en estados de estrés (Inmunológicas, endoteliales, etc.).

La mayoría de los mecanismos destructores de células dependen de lesiones de canales iónicos encargados de mantener el balance entre el interior y el exterior de la célula. El daño de lípidos durante la PL y la lesión de bombas iónicas durante la AP alteran la permeabilidad de membrana en periodos tan tempranos como 1-2 horas durante los estados de muerte celular²⁰.

Los cambios son principalmente relacionados con alteraciones de las bombas Na^+/H^+ ²¹ y alteraciones de bombas $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ (21); hasta el punto de implicar estas alteraciones de canales iónicos en los mecanismos productores de arritmias durante episodios de isquemia-reperfusión²².

Muchas interacciones intracelulares de los RL están siendo aclaradas y solo una detallada identificación de los mecanismos predominantes para cada tipo de célula y en patologías específicas durante estados de estrés permitirán hacer enfoques de manejo basados en lesiones fisiopatológicas.

2. Antioxidantes en la célula

Antioxidante puede ser definido como aquella molécula con la capacidad de reducir las propiedades oxidantes de otra. En este contexto, un antioxidante debe tener las siguientes propiedades:

- Agentes que remueven los RL y otras especies reactivas en forma catalítica, Ej.: Superoxido Dismutasa, Catalasa, Glutathione Peroxidasa, etc.
- Moléculas que disminuyen la de disponibilidad de pro-oxidantes como iones de hierro, cobre o heme. Ej.: Transferrinas, haptoglobinas, Metalotioneinas.
- Moléculas que protegen otras biomoléculas del daño. Ej.: HSP.
- Agentes de bajo peso molecular que barren RL y ERN. Ej.: GSH, Vit E, Vit C, ácido úrico, bilirrubina.

La composición de los mecanismos antioxidantes difiere de tejido a tejido, de célula a célula y posiblemente entre células de un mismo grupo en un tejido determinado. Los líquidos extracelulares tienen diferentes mecanismos de protección del medio ambiente intracelular ²³.

a. Clasificación.

Existen múltiples tipos y clasificaciones de antioxidantes pero la clasificación basada en el sitio de mecanismo de acción permite hacer un enfoque terapéutico más adecuado (Figura No. 2).

1) Extracelular, hidrofílico.

Vitamina C: El ácido ascórbico tiene varias acciones antioxidantes en vivo: el ser hidrosoluble le permite interactuar con el ion superóxido y con radicales hidroxilo ²⁴ y puede interactuar con el tocoferol oxidado con el fin de generar tocoferol reducido.

La unión de las vitaminas E y C es responsable de la mayoría de los efectos antioxidantes del organismo ^{25,26}. Ellas trabajan como directos barreiros de RL y actúan sinérgicamente evitando la oxidación entre ellos, regenerando su capacidad antioxidante. Este es un mecanismo que consume energía y consume NADPH a través de la utilización de GSH. La Vitamina C tendría también un efecto pro-oxidante debido a la capacidad para reducir el Ion ferrico a ferroso.

2) Intra-membranoso.

Vitamina E (a Tocoferol): Es el principal antioxidante liposoluble en las membranas celulares.

Esta protege directamente contra PL interactuando con una gran variedad de RL, como el Ion superóxido, peróxidos de lípidos y radical superóxido para formar radicales de tocoferol relativamente inocuos ²⁷.

3) Intra-citoplasmáticos.

Selenio (Se): Es un componente esencial del sistema antioxidante intracelular como componente estructural del sitio activo de la enzimas Glutathione peroxidasa (GPx). Esta Selenio-enzima desempeña su principal papel en mecanismos de defensa contra la peroxidación, especialmente PL y de esta forma el Se parece

tener su participación en la regulación de los procesos inflamatorios y la disminución de lesión de órganos ^{28,29}.

Sistemas Enzimáticos: Existe una gran cantidad de enzimas antioxidantes intracelulares que mantiene el estado redox en un relativo balance. Catalasa, GPx, CuZn-SOD, Fe-SOD o Mn-SOD. Con el inconveniente de que algunas de estas solo actúan en forma limitada en alguna reacción específica, dejando libre la posibilidad de producción de más antioxidantes. Además, algunos de los compuestos derivados de sus reacciones son inhibidores enzimáticos de ellas mismas ^{10,30,31}.

4) Intra-citoplasmáticos, intra-nuclear e intra-mitocondrial.

Glutathione (GSH). GSH es un tripeptido (L-gamma-glutamyl-cisteinil-glicina). En términos cuantitativos es uno de los más importantes antioxidantes en las células humanas. Se ha sugerido que el GSH tiene marcada importancia en los reguladores de la síntesis de proteínas, regenera Vitaminas C y E, evita la degradación de proteínas reduciendo la AP y participa en mecanismos de detoxificación hepática. Este también podría proteger tejidos cardiacos, músculo esquelético, hígado, células endoteliales, glóbulos rojos y células inmunológicas de los RL producidos durante estados de estrés o después de sobrecargas de hierro en situaciones clínicas que requieran de múltiples transfusiones.

El GSH sirve como sustrato para la enzima GPx, la cual remueve peróxido de hidrógeno. GSH reducido es un barrido de RL en las membranas de las células rojas y otras células; su deficiencia en forma parcial puede incrementar la hemólisis y acortar la vida del glóbulo rojo en pacientes urémicos ³².

5) Precursores de antioxidantes.

Glutamina: Este aminoácido es sustrato para la formación de uno de los componentes del GSH: el glutamato. La Glutamina es un aminoácido condicionalmente esencial bajo estados de estrés debido a su amplia gama de funciones en los pacientes críticamente enfermos ³³. Este aminoácido es la fuente energética preferida del ciclo de Krebs en aquellas células de rápida proliferación, como: enterocitos, leucocitos, linfocitos, y células endoteliales. Este es un importante precursor de los ácidos nucleicos y proteínas. También sirve como

transportador de nitrógeno en la producción de amonio. En términos generales, hay suficiente evidencia de que la glutamina hace parte fundamental de la integridad de la mucosa intestinal después de estrés severo, en mantener la integridad de la función inmune, cicatrización de heridas y en la excreción renal de amonio. La Glutamina es un aminoácido que depende de la ingesta de la dieta en estados de estrés o en estados de baja ingesta crónica. Aunque el intestino puede captar glutamina de la dieta, esta también es sintetizada y almacenada en el organismo, principalmente en el músculo, la cual puede ser liberada en estados de estrés ³⁴.

N-Acetylcysteina (NAC): Es un barredor directo de RL y ERN (incluyendo HOCL, ONOOH, RO₂· OH· y H₂O₂). La NAC es utilizada tanto en vivo como in vitro (Ej.: Es el tratamiento de elección para la intoxicación por paracetamol) Aunque NAC es una interesante droga que ha mostrado efectos benéficos en estudios experimentales en las UCI, la eficacia y los estudios clínicos no han sido completamente alentadores. Esto puede ser derivado del desconocimiento de la farmacocinética, farmacodinamia y mecanismo de acción intracelular de la droga en estados de disfunción orgánica.

S-Adenosil-Metionine (SAM): Entre los mecanismos enzimáticos encargados de la producción de GSH en el organismo en estado fisiológico existe la conversión de Metionina a Cisteina a través de la vía de trans-sulfuración en el hígado. Los pacientes bajo estados de estrés o hipoxia presentan deterioro en algunos mecanismos enzimáticos encargados de dicha conversión enzimática. Basados en lo anterior, en el oriente Europeo y Japón se promulga por la utilización de compuestos intermediarios enzimáticos como el SAM y de esa forma incrementar la producción antioxidante del organismo a través del aumento en la síntesis de GSH.

6) Antioxidantes con sitio de acción desconocido.

Existe un grupo de sustancias que tradicionalmente han sido herramientas de tratamiento antioxidante de las medicinas alternativas o de la medicina China. Algunas de estas son el ajo, el Ginkgo biloba, el Ginseng, Coenzima Q y aunque el ácido fólico es muy conocido como herramienta nutricional existe solo un estudio

utilizándolo en altas dosis como antioxidante en pacientes críticos. Todas estas sustancias aunque en teoría se dice que son antioxidantes, aun no hay pruebas para la utilización rutinaria en la clínica.

En conclusión, aunque existan muchos antioxidantes en el medio biológico, aun existen muy pocos con participación activa en el entendimiento del balance del estado redox de los pacientes críticamente enfermos. Además, la condición aguda desencadena la producción de muchas sustancias como altos niveles de ON, que de una u otra forma comparten acciones oxidativas al producir derivados como el ONOO y acciones antioxidantes en contra de la PL5.

3. Balance Oxidación/ Antioxidación

a. Oxidación.

La evaluación del estado oxidativo de los pacientes críticamente enfermos está aun por determinarse. Existen en el medio varias pruebas de laboratorio, midiendo sustancias en forma directa o indirecta, como marcadores de lesión oxidativa: proteínas oxidadas, lípidos oxidados, conjugados «dienes» de peroxidación lipídica (CDPL), hidropoxido de lípidos (HP), malondialdehido (MDA), Radical libre ascorbil, Acido tiobarbitúrico (TBA), hidroxinonenal, isoprostanes y DNA oxidado. Sin embargo, aunque algunos se han correlacionado con el grado de la enfermedad crítica, a la fecha faltan estudios que ayuden a aclarar cuál es más sensible y específico como marcador de lesión oxidativa en las UCI.

- *En shock e inflamación (Sepsis).*

El shock en estados de inflamación se caracteriza por hipo-respuesta vascular, disfunción miocárdica y alteración en el consumo de oxígeno intracelular. Muchas de estas lesiones son particularmente atribuidas al ON·, pero también compartidas por el ONOO-. En el choque circulatorio, las citokinas representan una respuesta celular pleiotropica, inclusive la estimulación de RL tales como el O2-·. La mayoría del ON· producido por los macrófagos es convertido a ONOO-. Además, hay evidencia de la producción de especies reactivas de oxígeno como O2-·, H2O2 y OH· en los sitios locales de inflamación que ayudan a la destrucción de tejidos Durante

ileitis⁶¹ e inflamación intestinal inducida por endotoxinas existe incremento en la producción de ONOO⁻. En el shock séptico existe incremento de especies reactivas del hierro, hay 3 veces mas incremento en peróxidos, incremento de los niveles de especies reactivas con el ácido TBA, incremento en los niveles de MDA, 4-hidroxi-2-nonenal y anormalidades del glóbulo rojo, aumento de protein-carbonyl, como marcador de AP e incremento de 8-iso-PGF2alfa.³⁵

PROBLEMA

A la fecha, se sabe que la oxidación ocurre en paciente crítico, no sólo existe peroxidación lipídica para explicar las disfunciones orgánicas, como se pensó en la década de los 80, sino que también existe la oxidación de proteínas como mecanismo de lesión de estructuras celulares y mecanismo de disfunción orgánica. 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.

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

Se desconoce el efecto real y en que grado disminuye el estrés oxidativo que se presenta en los pacientes con sepsis abdominal que reciben tratamiento con antioxidantes, no existen reportes formales al respecto, por lo que es necesario realizar estudios exploratorios, a corto y a largo plazo, para determinar su importancia en el tratamiento de este tipo de pacientes y encontrar relación entre los niveles de marcadores de estrés oxidativo y el uso de antioxidantes.

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.

Actualmente se sabe que muchas otras sustancias oxidantes derivados de la patología aguda y la oxidación de proteínas, participan en la fisiopatología de la disfunción orgánica múltiple de los pacientes críticos. Así como el sistema de oxidación a cambiado, también lo han hecho los antioxidantes biológicos con mayor participación en las defensas del organismo y Por lo tanto, el conocimiento del balance entre oxidantes y antioxidantes en pacientes crítico debe de ser también estudiado.

Realmente son pocos los estudios que intentan analizar los mecanismos antioxidantes en estados de inflamación y sepsis. Sin embargo, la mayoría indican que existe un desequilibrio en el estado de óxido / reducción, a favor de incremento de oxidantes; es por ello que es importante establecer una medida terapéutica “contra oxidatoria”.

OBJETIVO GENERAL

Comparar los niveles de estrés oxidativo de pacientes con sepsis abdominal que reciben tratamiento con antioxidantes y pacientes sin tratamiento antioxidante.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Correlacionar niveles del grado de nitritos / estrés oxidativo presente en pacientes con sepsis abdominal.
- Reportar niveles de nitritos / estrés oxidativo en pacientes con sepsis abdominal que reciben tratamiento con vitamina A en combinación con vitamina C como antioxidantes.
- Dar seguimiento a la evolución clínica de los pacientes, hasta el alta hospitalaria del paciente.
- Correlacionar los valores séricos de los biomarcadores con los hallazgos clínicos transoperatorios, estancia hospitalaria y mortalidad.

HIPÓTESIS

El uso de antioxidantes en pacientes con sepsis abdominal disminuye de manera directamente proporcional el nivel de nitritos en estrés oxidativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio

- ❑ Observacional
- ❑ Longitudinal
- ❑ Prospectivo
- ❑ Comparativo

Grupo de estudio.

Pacientes admitidos en el servicio de urgencias adultos con el diagnóstico de sepsis abdominal, definiendo sepsis abdominal como la respuesta inflamatoria sistémica originada por un foco infeccioso intraabdominal.

Grupo problema.

Pacientes admitidos en el servicio de urgencias con el diagnóstico sepsis abdominal (respuesta inflamatoria sistémica originada por un foco infeccioso intraabdominal) siendo su resolución quirúrgica.

Grupo testigo.

Pacientes con sepsis abdominal que no reciban tratamiento antioxidante con resolución quirúrgica.

Tamaño de la muestra.

20 pacientes.

Criterios de inclusión.

Pacientes adultos admitidos al área de hospitalización de urgencias adultos con diagnóstico de sepsis abdominal, que sean sometidos a tratamiento quirúrgico

y se confirme el origen intraabdominal de la sepsis por parte del servicio de cirugía general.

Que el paciente (o su familiar responsable) esté de acuerdo en ingresar al protocolo de estudio, demostrando su conformidad firmando la carta de consentimiento informado.

Pacientes cuyo manejo quirúrgico sea realizado exclusivamente en este hospital.

Pacientes que no padezcan enfermedades pro-estrés oxidativo.

Criterios de exclusión.

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.

Criterios de eliminación

Pacientes de los cuales no se completó el seguimiento en esta unidad hospitalaria.

Pacientes que no acepten participar en el protocolo.

Pacientes que fallezcan durante la realización del estudio.

Cédula de recolección de datos

De cada paciente se recolectara información de sexo, edad, comorbilidad, antecedentes quirúrgicos, datos clínicos, valores de pruebas de laboratorio y se

registrara el tratamiento, estancia hospitalaria, complicaciones y reintervenciones de acuerdo a lo que se muestra en la cedula del anexo 1.

Descripción general del estudio.

De los pacientes que cumplan los criterios de inclusión se recolectara la información de acuerdo a lo establecido en la cedula de recolección de datos, se tomara una muestra de sangre posterior a realizarse el diagnostico de sepsis abdominal (hallazgo quirúrgico) la cual será almacenada para posteriormente determinar el valor de nitritos la cual se realizara en el Instituto Politécnico Nacional. La modalidad de tratamiento quirúrgico se determinara por el cirujano responsable que no conoce los resultados de la determinación de nitritos y que pacientes recibirán antioxidantes. Se dará seguimiento a la evolución de los pacientes hasta su alta hospitalaria, registrando el tipo de tratamiento y los hallazgos transoperatorios, así como complicaciones y reintervenciones en caso de presentarse. Posteriormente se realizara el análisis matemático de los datos obtenidos.

De los pacientes seleccionados por personal capacitado se formaran aleatoriamente dos grupos o bloques, cada bloque tendrá el mismo número de sujetos que reciban tratamiento o no, uno que recibirá tratamiento a base de vitamina C en combinación con vitamina A, inyectable a (dosis vitamina A 100,000 UI por día por 3 días y vitamina C 10mg por día por 3 días) y otro que no lo recibirá, dichas dosis serán administradas en el turno matutino por parte del servicio de Apoyo Nutricio de nuestra unidad, determinándose nitritos posterior al evento quirúrgico, y 72 horas en ambos grupos, para posteriormente comparar los niveles de nitritos entre ambos grupos. El grupo sin tratamiento estará sometido al manejo habitual establecido por el servicio de cirugía general.

Una vez egresados de quirófano los pacientes de ambos grupos y durante las 2 horas posteriores a la cirugía se tomaran muestras de sangre (aproximadamente 10 ml) en tubo seco, así como 72 horas posteriores al evento quirúrgico. Se dejaran

reposar a temperatura ambiente por un lapso de 30 minutos y posteriormente se centrifugaran, tomándose el suero obtenido y colocándose en tubos EPENDORF los cuales se mantendrán en congelación hasta ser llevados al laboratorio con la rotulación adecuada del tubo y la tapa con el número correspondiente de cada paciente. Se transportaran durante las 24 hr siguientes a su obtención, al laboratorio de investigación de estrés oxidativo de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional, en thermo con congelante, donde se colocaban en refrigerador REPCO a -70°C a -80°C para posteriormente procesar *nitritos* como marcadores de estrés oxidativo.

La selección de los pacientes que reciban y no reciban tratamiento con antioxidantes será realizado de forma aleatoria por medio del método de aleatorización simple por parte del servicio de Apoyo Nutricio de nuestro hospital. Los pacientes que participen en esta investigación se les entregará hoja de consentimiento informado, la cual será entregada posterior a confirmar el origen abdominal de la sepsis; y de consentimiento en caso de que sean seleccionados para uso de antioxidantes, al realizarse la selección de forma aleatorizada por parte del servicio de Apoyo Nutricio de nuestra unidad.

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

A. Curva Estándard

1. Reactivos

- NaNO_2 utilizándolo a las siguientes concentraciones en forma progresiva:

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

0.5175 $\mu\text{g/mL}$ 0.00173 $\mu\text{g/mL}$ 0.173 $\mu\text{g/mL}$ 0.00069 $\mu\text{g/mL}$ 0.069 $\mu\text{g/mL}$

Por triplicado alícuotas de 250 μl

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

Con estas diluciones, se midió la absorbancia de las siguientes concentraciones de nitrato de sodio para realizar una curva control. Se tomó 250 μL de cada una de las concentraciones anteriores

2. 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.
3. 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 $F(x)=\text{abs. vs. Concentración}$.

B. Determinación de nitritos

1. Agregar 40 μl de E. coli 1775 por tubo. Se incuba 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.

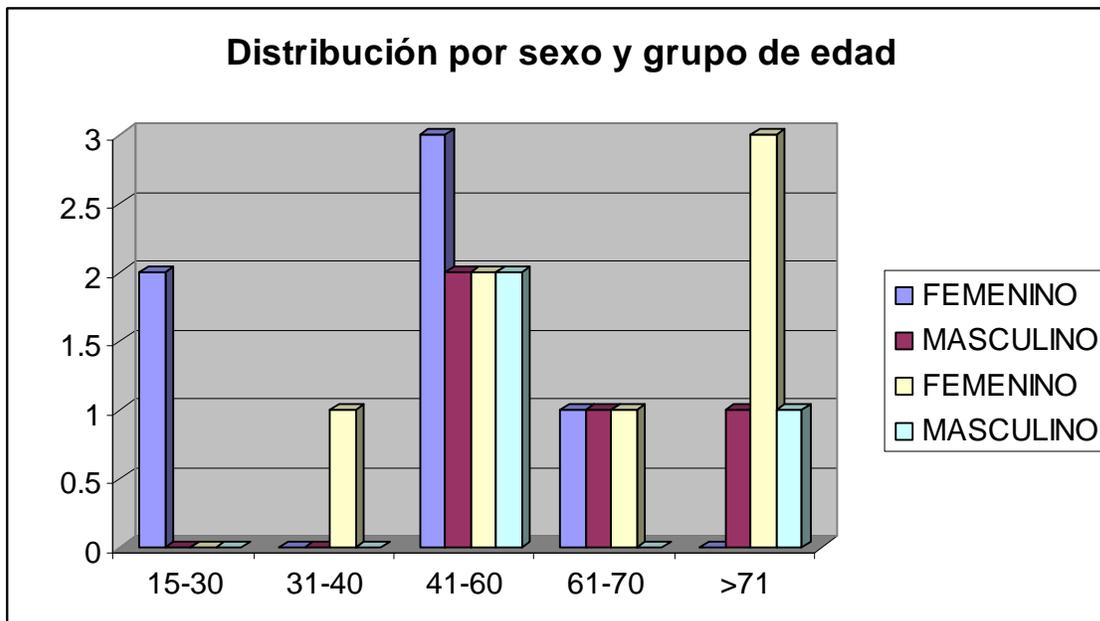
RESULTADOS

En el estudio se incluyeron 20 pacientes en el periodo de mayo 2008 a diciembre 2008 en el Hospital Regional 1ro. de Octubre y diagnosticados como sepsis abdominal durante este mismo periodo, de los cuales 10 pacientes estuvieron dentro del grupo testigo y 10 pacientes pertenecieron al grupo problema; del total de ambos grupos 12 pacientes son sexo femenino y 8 sexo masculino, edad mínima 16 años y máxima de 85 años con una media de.

Los diagnósticos encontrados por orden de frecuencia en ambos grupos fueron apendicitis complicada con 6 pacientes, piocolecisto 4 pacientes, trombosis mesentérica 2 pacientes, úlcera duodenal perforada 1 paciente y úlcera gástrica perforada 1 paciente (cuadro 2).

DISTRIBUCION POR SEXO Y GRUPO DE EDAD

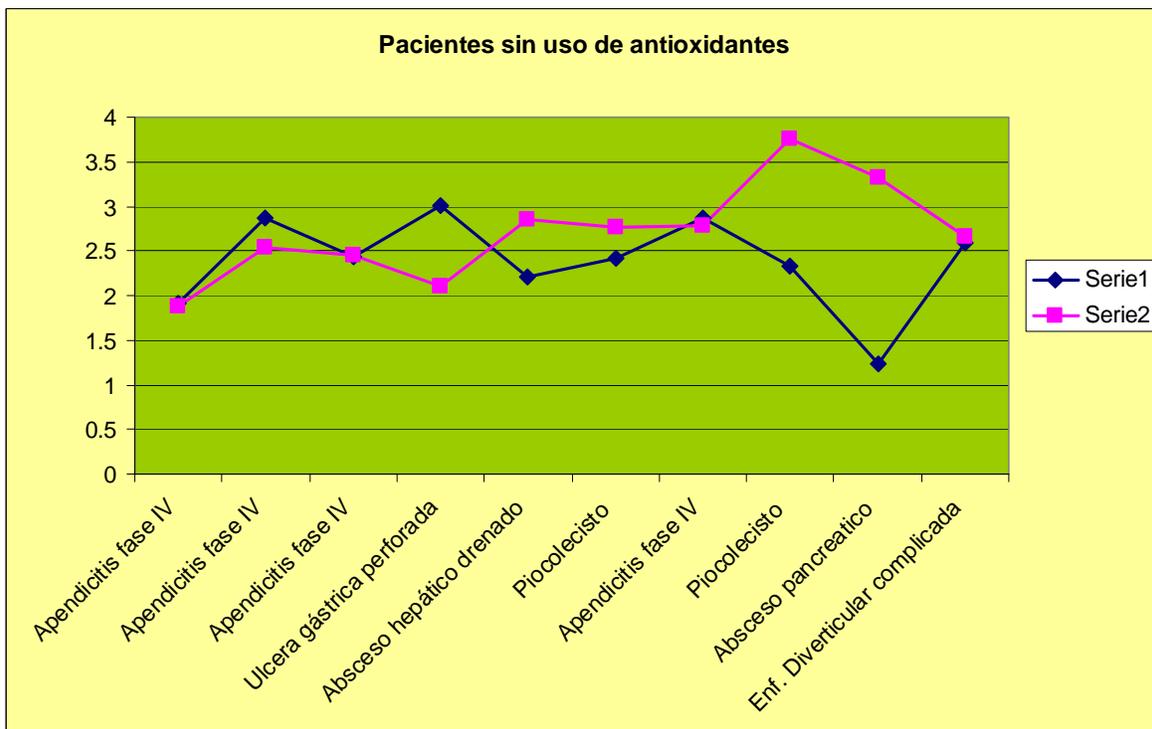
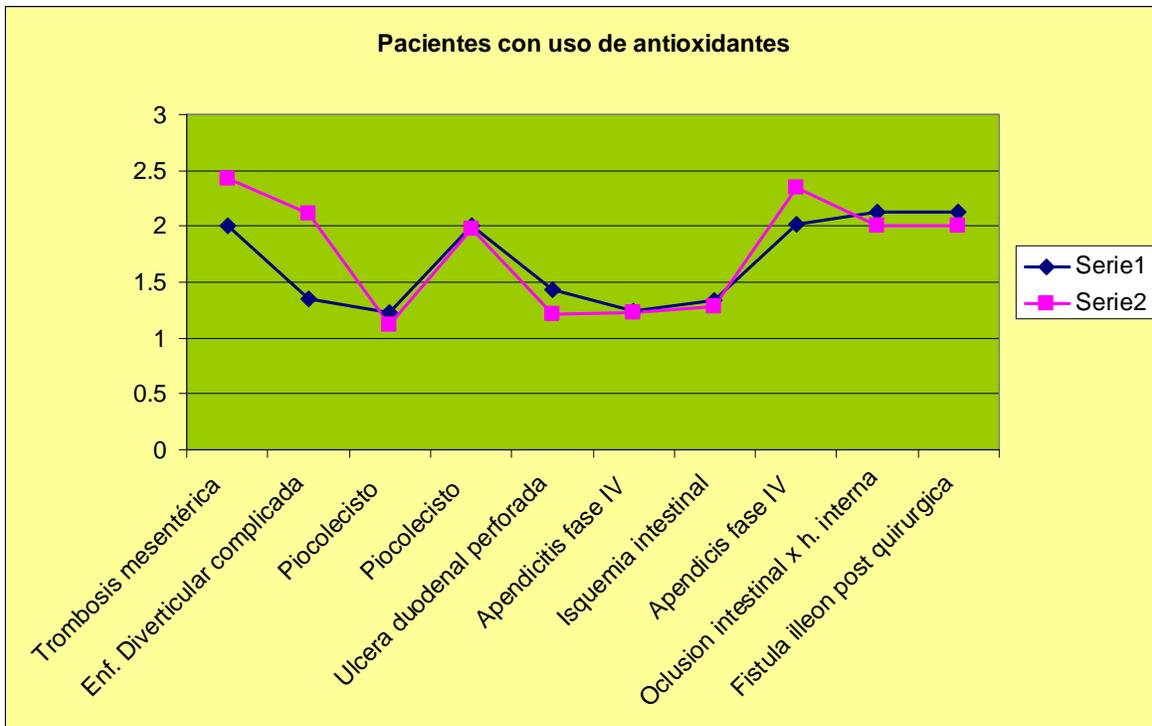
EDAD	Pacientes sin tratamiento con antioxidantes		Pacientes con tratamiento con antioxidantes		TOTAL
	FEMENINO	MASCULINO	FEMENINO	MASCULINO	
15-30	2	0	0	0	2
31-40	0	0	1	0	1
41-60	3	2	2	2	9
61-70	1	1	0	1	3
>71	0	1	3	1	5
TOTAL	6	4	6	4	20



Cuadro 2. Diagnósticos principales

Diagnóstico	Número de pacientes (n= 20)
Apendicitis complicada	6 (%)
Piocollecisto	4 (%)
Enfermedad diverticular complicada	2 (%)
Úlcera duodenal perforada	1 (%)
Úlcera gástrica perforada	1 (%)
Absceso hepático drenado	1 (%)
Absceso pancreático	1 (%)
Trombosis mesentérica	1 (%)
Isquemia intestinal	1 (%)
Oclusión intestinal por hernia interna	1 (%)
Fístula ileon posquirúrgica	1 (%)

Al reagrupar a los pacientes del grupo testigo de acuerdo al índice de peritonitis de Mannheim y la mortalidad, encontramos que todos los pacientes estaban en el porcentaje con mortalidad de 2.3% con un índice de Mannheim menor de 21. El grupo problema se encontraron 4 pacientes con mortalidad 2.3%, 1 con mortalidad de 22.5% y 5 pacientes con mortalidad mayor del 59%.



En las gráficas previas se demuestra en el grupo de pacientes que recibió tratamiento con antioxidantes el nivel de nitritos se mantuvo en promedio por debajo del nivel de 1.5 $\mu\text{g/mL}$ tanto en la muestra a las 24 y 48 horas de haber recibido las dosis de antioxidantes, y en el grupo control en promedio por arriba del nivel de 2.0 $\mu\text{g/mL}$ con algunos picos cercanos a 3.0 sin disminución significativa en la serie a las 48 hrs del procedimiento quirúrgico. Sin embargo lo anterior no es concluyente ya que es necesario ensayos clínicos con mayor cantidad de pacientes y un seguimiento a largo plazo.

DISCUSION

En el mundo de la medicina, los antioxidantes están en boga, y algunos de ellos, entre los cuales se encuentra la vitamina C pueden ser incluso más. Una de las razones probables es su eficacia en el tratamiento de enfermedades graves en pacientes de cuidados intensivos – sepsis, que sigue siendo la principal causa de muerte en este grupo de pacientes.

Este estudio está basado en el efecto antioxidante de la vitamina C y A, sin embargo su eficacia puede estar oculta en sus otros numerosos efectos, tal es el caso, en artículos publicados recientemente como los del Dr. Tynl y colegas, así como grupos similares.

Este grupo de investigadores concluyen que la administración tardía de vitamina C posterior al diagnóstico de sepsis puede tener efectos benéficos. Señalan muchas razones entre las cuales destacan que puede intervenir con la activación de los leucocitos y probablemente influir en la activación del endotelio o la migración de leucocitos, acontecimientos que acompañan a la sepsis de diversas localizaciones. Poco sabemos de si la cascada de coagulación se ve afectada por altas dosis de esta vitamina. Hay algunas pruebas de que dicha vitamina inhibe las citocinas inducidas por óxido nítrico en la expresión endotelial de las células. Este efecto puede ser independiente del factor nuclear B de activación. Un importante efecto que podría influir en el flujo sanguíneo esta vinculado a la incidencia directa de la vitamina C sobre la disminución de la capacidad de deformación de los eritrocitos encontrados en las sepsis. Necesitamos investigar más acerca de la propiedad de la vitamina C para restaurar la reactividad vascular que esta fuertemente disminuida en la sepsis.

CONCLUSIONES

El fracaso de los ensayos clínicos para demostrar el beneficio de las terapias con antioxidantes sigue siendo una gran decepción en nuestra capacidad para traducir el conocimiento de la función celular y molecular en la práctica clínica. Aunque hay un número importante de hipótesis, las verdaderas razones siguen siendo desconocidas. Sin embargo es importante apreciar que los juicios de antioxidantes en terapias a largo plazo se han centrado en los agentes de fácil acceso en lugar de aquellos que son más eficaces. Además, mientras que a largo plazo los ensayos han sido decepcionantes, los estudios de antioxidantes más potentes en lesiones graves han sido más alentadores (aunque estos ensayos son pequeños y han dado resultados que están lejos de ser concluyentes). La falta de beneficio observada en los ensayos clínicos hasta la fecha no desvirtua el papel central del estrés oxidativo en pacientes con sepsis abdominal. Más bien estos ensayos nos desafían a diseñar mejores ensayos de antioxidantes para el futuro: los ensayos que se centren en el uso de mejores antioxidantes, en la dosis correcta, en la población y de la duración óptima. En nuestro estudio los resultados indican que las concentraciones de nitritos en pacientes con y sin tratamiento de antioxidantes se encuentran similares, pero que no son concluyentes tal vez dado el corto tiempo en que se realizaron las mediciones después de la aplicación de los antioxidantes o tal vez realizar un estudio en pacientes más homogéneos para valorar si los resultados son menos dispares. Aún no se ha encontrado la dosis, el tiempo de duración óptimo y la población en que haya un mejor efecto-beneficio con el uso de antioxidantes, por lo que se deberá continuar la realización de ensayos más grandes en cuanto a población así como en cuanto a duración en el seguimiento de los niveles de estrés oxidativo y/o en condiciones más homogéneas.

ANEXOS

“USO DE ANTIOXIDANTES EN EL ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL”

APACHE II

	4	3	2	1	0	1	2	3	4
TEMP RECTAL	>41	40.9-39		38.9-38.5	36.5-38.9	34-35.9	32-33	30-31.9	30-31.9
TA	>160	130-159	110-130		70-109		55-69		< 49
FC	>189	149-179	110-139		70-109		55-69	40-54	< 39
FR	> 50	95-49		25-34	12-24	10-11	6-9		< 5
O ₂ FiO ₂ >50%	> 500	350-499			< 200				
FaO ₂ <50 PaO ₂					> 70	61-70		55-60	< 55
PH	> 7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.39	7.15-7.24	> 7.15
Na	180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	< 110
K	> 7	6-6.5		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Creatinina	> 3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
HcT	> 60		50-59	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
Leucos	> 40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		< 1
GLASGOW	3	4-6	7-9	10-12	13-15				
Total									

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

Nombre _____ Cama _____
 Fecha _____ Núm de Paciente _____

**“USO DE ANTIOXIDANTES EN EL ESTRÉS OXIDATIVO
EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL”**

Pac# :

ÍNDICE DE PERITONITIS DE MANNHEIM

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

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

Nombre _____ Cama _____
 Fecha _____ Núm de Paciente _____

Índice de Peritonitis de Mannheim _____

“USO DE ANTIOXIDANTES EN EL ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON SEPSIS ABDOMINAL”

Día					
Prot C reac					
Dímero D					
Di-Tirosin					
El otro					
Apache II					
Sepsis Abd					
FC/FR					
TAM/T°					
Hb/HcT					
Leucos					
Neutr/Ban					
Plt					
Gluc					
Cr/Urea					
BUN					
Na/K					
Prot/alb					
Linf totales					
pH					
PaO ₂					
HCO ₃					
Lactato					
TP					
TPT					
Fibrinógeno					
Stress 24 hrs			Stress 48 hrs		

BIBLIOGRAFIA

1. Michael R. Antioxidant therapy for severe sepsis: Promise and perspective Crit Care Med 2003 Vol. 31, No. 11
2. Elliott D, Therapeutic benefits of antioxidants during sepsis: Is protection against oxidant-mediated tissue damage only half the story? Critical Care Medicine - Volume 32, Issue 2 (February 2004)
3. Malangoni MA. Evaluation and management of tertiary peritonitis. Am Surg 2000; 66: 157-61.
4. 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.
5. Larrondo-Muguercia H, León-Pérez R. Estrés oxidativo y sepsis Rev Cubana Invest Biomed 2000; 19:199-201.
6. 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.
7. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. N Eng J Med 2003; 348: 138-150.
8. Hilev Larrondo Muguercia, Infección intra-abdominal y estrés oxidativo.
9. Carlos J Hurtado MD, Primer consenso de sepsis de origen abdominal, Act. Col. Inten. 9 (02) 101 - 143, 2006
10. Liaudet L, Soriano FG, Szabo C. Biology of nitric oxide. Crit Care Med. 2000; 28 (4): N37-N52.
11. Wink DA, Vodovotz Y, Grishan MB, De Graff W, Cook JC, Pacelli R, Krishna M, Mitchell JB. Antioxidant effects of Nitric Oxide. Methods in Enzymol. 1999; 301: 413-424.
12. Dean RT, Shanlin FU, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem J. 1997; 324: 1-18.

13. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.* 1983; 52: 711 – 60.
14. Seres T, Ravichandran V, Moriguchi T, Rokutan K, Thomas JA, Johnston RJ. Protein S-thiolation and dethiolation during the respiratory burst in human monocytes. A reversible post-translation modification with potential for buffering the effects of oxidant stress. *J Immunol.* 1996; 156: 1973-1980.
15. Valencia E and Hardy G. Glutathione, Nitric oxide and Sepsis. *British Journal of Intensive Care.* 2000; 10 (5): 167-175
16. Storz G and Tartaglia LA. OxyR: a regulator of antioxidant genes. *J Nutr.* 1992; 122: 627-630
17. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biology & Medicine.* 2000; 28 (3): 463-499.
18. Buttke TM, Sandstrom PA. Redox regulation of programmed cell death in lymphocytes. *Free Radic Res.* 1995; 22, 389.
19. Pinkus R, Weiner LM, Daniel V. Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF-kB, and glutathione S-transferase gene expression. *J Biol. Chem.* 1996; 271: 13422
20. Richards DM, Dean RT, Jessup W. Membrane proteins are critical targets in free radical mediated cytolysis. *Biochim Biophys Acta.* 1988; 946: 281-288.
21. Yasutake M, Ibuki C, Hearse DJ, Avkiran M. Na⁺/H⁺ exchange and reperfusion arrhythmias: protection by intracoronary infusion of a novel inhibitor. *Am J Physiol.* 1994; 267: H2430-H2440
22. Bernier M, Kusama Y, Borgers M, Ver DL, Valdes AO, Neckers DC, Hearse DJ. *Free Radical Biol Med* 1991; 10: 287-296.
23. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1.
24. Sauberlich HE. Ascorbic acid In: Brown ML, ed. *Present Knowledge in nutrition.* Washington. DC: International Life Sciences Institute, 1990:96-107

25. Goode HF, Webster NR. Free Radical and Antioxidants in Sepsis. *Crit Care Med* 1993; 21:1770-1776.
26. Goode HF, Webster NR. Antioxidants in Intensive Care. *Clinical Intensive Care*, 1993; 4:265-269.
27. Bieri JG. Vitamin E: In: Brown ML, ed. *Present Knowledge in Nutrition*. Washington DC: International Life Sciences Institute, 1990:117-121
28. Peake SI, Moran JL, Peppard PI. N-Acety-L-cisteyne depresses cardiac performance in patients with septic shock. *Critical Care Medicine*. 1996; 24: (8) 1302-1310.
29. Angstwurm MWA, Schottdorf J, Schopohl J, Gaetner R. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Critical Care Medicine*. 1999; 27: (9) 1807-1813
30. Creo JP, Ye YZ, Strong M, et al. Superoxide dismutase catalyzes nitration of tyrosines by peroxynitrite in the rod and head domains of neurofilament-L. *J Neurochem* 1997; 69: 1945-1953.
31. Crow JP, Sampson JB, Zhuang Y, et al. Decreased Zinc affinity of amyotrophic lateral sclerosis-associated superoxide dismutase mutants leads to enhanced catalysis of tyrosine nitration by peroxynitrite. *J Neurochem* 1997; 69: 1936-1944.
32. Michael H. Antioxidant Therapy in the critically ill. *British Journal of Intensive Care*. 2000, 88-93
33. Souba, WW. et al (1990) «Glutamine nutrition: theoretical considerations and therapeutic impact. *J. Parenteral Enteral Nutrition* 14: 237S - 243S.
34. Packer, L., Witt E, H., and Tritschler, H.J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Rad Biol Med*. 1989, 6:593-597.
35. ERICK VALENCIA*, ANGELA MARÍN BALANCE REDOX (OXIDANTES/ANTIOXIDANTES) EN PACIENTES CRÍTICAMENTE ENFERMOS