

UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

*Modificación de mediadores inflamatorios
tisulares y hormonas del estrés tras
cirugía en el paciente pediátrico.*

Tesis presentada por
Laura Fernández Maza
para optar al grado de
DOCTOR EN FARMACIA

Granada 2008

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Laura Fernández Maza
D.L.: GR.1905-2008
ISBN: 978-84-691-5981-1

Don MIGUEL MORENO PRIETO, Doctor en Ciencias Biológicas, profesor titular del Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada,

Don FRANCISCO JAVIER CASTEJÓN CASADO, Doctor en Medicina y Cirugía y Facultativo especialista de área del Servicio de Cirugía Pediátrica del Centro Maternoinfantil del Hospital Universitario “Virgen de las Nieves” de Granada y

Don ÁNGEL MIGUEL RAMÍREZ NAVARRO, Doctor en Farmacia y Facultativo especialista de área de la Unidad de Radiofarmacia del Hospital Universitario “Virgen de las Nieves” de Granada,

CERTIFICAN

Que Doña Laura Fernández Maza, Licenciada en Farmacia, ha efectuado bajo su dirección el presente trabajo de investigación titulado

“Modificación de mediadores inflamatorios tisulares y hormonas del estrés tras cirugía en el paciente pediátrico”, trabajo que presenta para optar al grado de Doctor en Farmacia,

Lo que aquí se firma y ratifica, por los que suscriben, en

Granada, a de julio de 2008

Fdo.: M. Moreno Prieto

Fdo.: F.J. Castejón Casado

Fdo.: A.M. Ramírez Navarro

Esta tesis forma parte del proyecto de Plan propio de Investigación de la Universidad de Granada titulado:

“Influencia de las citoquinas y de la estimulación nociceptiva en la respuesta humoral frente a la agresión quirúrgica pediátrica”, otorgado en marzo de 2004. Investigador principal: Dr. M. Moreno Prieto, y del proyecto SAS 0320/05 “Eficacia y efectividad de un modelo de tratamiento del dolor postoperatorio pediátrico y su relación con citoquinas y patrones hormonales”. Investigador principal: Dr. J. Castejón Casado.

Agradecimientos

Al apoyo incondicional, la paciencia, el ánimo, el saber hacer y tantas y tantas tardes que dedicaron los doctores **Miguel Moreno Prieto, Javier Castejón Casado y Ángel Ramírez Navarro** a la dirección de este trabajo de investigación. Fue un placer “discutir” con ellos.

Al apoyo también imprescindible del personal del **Departamento de Fisiología** de la Universidad de Granada, tanto en los estudios de doctorado, como en la parte bibliográfica del proyecto.

Al jefe de Servicio de Cirugía pediátrica, Doctor **Carlos Jiménez Álvarez**, que desinteresadamente puso a mi disposición a su personal y la amabilidad y la paciencia del personal de quirófanos, reanimación y la sexta planta del Hospital Materno-Infantil, que siempre estuvieron disponibles (con una sonrisa) para las extracciones.

A los doctores **Mauricio Conde Otero y Salvador López Checa**, por tantas veces que me avisaron de las intervenciones interesantes en este estudio.

Al Doctor **Jose Manuel Llamas Elvira**, jefe de Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, por el cariño y el empuje para que me embarcase en este proyecto y las facilidades para llevar a cabo toda la parte experimental del mismo.

A la dedicación (y los buenos ratos) del personal del laboratorio de RIA; **Mercedes Carmona, Esperanza Córdoba, Trini Ruiz y Pilar Cantero**, que tanto ayudaron en las determinaciones analíticas.

A la ayuda estimable, pero impagable, de **Pepe Rioja** con la estadística.

A **Fede**, que sufrió todas las fases de la memoria de investigación.

A los padres, por su confianza, y sobre todo, a los niños, sujetos pacientes de este estudio.

A todos y cada uno de ellos mi agradecimiento personal.

A mis padres

Índice:

1.- Situación Bibliográfica

1.1. Introducción.

1.2. Citoquinas:

1.2.1 Generalidades.

1.2.2 Propiedades.

1.2.3 Tipos y Funciones:

1.2.3.1 Citoquinas Proinflamatorias:

IL-1,IL-6, TNF α

1.2.3.2 Citoquinas antiinflamatorias.

IL-2, IL-4, IL-10

1.3 Agresión quirúrgica y liberación de citoquinas.

1.4 Efecto de las citoquinas sobre el eje hipotálamo-hipofiso-adrenal

1.5 Citoquinas y dolor postquirúrgico:

1.6 Analgesia preventiva, anestesia, dolor postquirúrgico y liberación de citoquinas

2. Objetivo

2.1 Objetivo general

2.2 Objetivos específicos

3. Pacientes y Métodos

3.1 Bases bioéticas

3.2 Tipo de estudio

3.3 Sujetos y ámbito de estudio

4. Cronología de obtención de datos

5. Metodología de la obtención de datos

5.1 Determinaciones analíticas

5.2 Análisis estadístico

6.Resultados

7. Discusión

8. Conclusiones

9. Bibliografía

1. SITUACIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 INTRODUCCIÓN

En el estudio de las modificaciones fisiológicas que la cirugía induce en el organismo del niño, se hallan por dilucidar aspectos conceptuales del estrés quirúrgico, y sobretodo las repercusiones que la intensidad de éste puedan tener en el organismo del paciente intervenido.

La información en este campo es escasa, y es mucho menor en la edad pediátrica, en la que la falta de estudios de investigación es aún más patente.

En estudios previos de nuestro grupo de investigación, las hipótesis se centraban en las modificaciones endocrinológicas y psicoconductuales que la cirugía induce en el niño intervenido (Ramírez 2003, Castejón 2001, Moreno 2000, Valladares 2000, Palacio 1997, López-Candel 1994).

Actualmente orientamos la investigación a otras modificaciones relacionadas, pero más directamente implicadas en el proceso reparativo intra y posquirúrgico, como son las modificaciones en los mediadores inflamatorios.

Estudios recientes han puesto de manifiesto la pertinencia de esta línea de investigación, que pretende establecer un puente de conexión entre el laboratorio y la clínica, dado que la evaluación en el laboratorio de la respuesta inflamatoria tiene bastante interés para valorar la agresión que produce el acto quirúrgico (White 2005).

Datos actuales de investigación sugieren que la inflamación que acompaña a la cirugía involucra a la respuesta inmune celular y a la humoral, y puede cuantificarse midiendo mediadores inflamatorios como las citoquinas,

activación leucocitaria, factores activadores del complemento y quimioquinas (Eggum 2008). La respuesta inflamatoria parece ser más pronunciada en niños que en adultos (Jensen 2001) y dentro de la edad pediátrica, los niveles basales de citoquinas pueden ser bastante variables dependiendo de la patología de base, así, por ejemplo, niños con síndrome de Down suelen presentar elevados valores de citoquinas en el preoperatorio (Eggum 2008). Otros factores relacionados con la cirugía dan lugar a cambios en los mediadores inflamatorios, es el caso de la hipotermia durante la intervención, que generalmente atenúa la respuesta inmune y aumenta la susceptibilidad a infecciones (Rasmussen 2007).

Los mediadores inflamatorios tienden a concentrarse en el lugar del daño tisular, encontrando niveles de citoquinas superiores a los niveles plasmáticos (Clements 2006) aunque los mediadores circulantes reflejan bastante bien la gravedad del proceso inflamatorio.

Las citoquinas juegan un papel fundamental en la respuesta al trauma (Hill y Hill, 1998) Por ejemplo, el TNF α es importante en la cicatrización de la herida, la IL-1 participa en la remodelación del tejido conectivo y los huesos (Paddison 2008), además de esas actuaciones a nivel local, las citoquinas son importantes mediadores de la fase de respuesta aguda, actuando sobre el hígado para dar lugar a las respuestas metabólicas que acontecen tras la cirugía (Tompkins 1997).

Durante el proceso inflamatorio que conlleva una agresión como la cirugía, las citoquinas proinflamatorias activan el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal.

Inmediatamente al acto quirúrgico se produce el fenómeno inflamatorio para movilizar todos los mecanismos de inmunidad, celulares y humorales

(Chrousos 1997). Generalmente es un fenómeno exacerbado, que tiende a controlarse también por el propio organismo.

1.2 CITOQUINAS

Generalidades de las citoquinas

Las citoquinas son proteínas producidas por las células, tanto en la inmunidad innata como la específica, en respuesta a una gran variedad de estímulos.

En la fase de activación de las respuestas inmunitarias, las citoquinas estimulan el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos, y en las fases efectoras de la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa activan diferentes células efectoras para que eliminen microorganismos y otros antígenos. Las citoquinas también estimulan el desarrollo de las células hematopoyéticas. En medicina clínica, las citoquinas son importantes como agentes terapéuticos o como dianas para antagonistas específicos en numerosas enfermedades inmunitarias e inflamatorias (Linn 2000).

La nomenclatura de las citoquinas a menudo se basa en sus fuentes celulares. Las citoquinas producidas por los fagocitos mononucleares reciben en ocasiones el nombre de monoquinas, y las producidas por los linfocitos habitualmente se llaman linfoquinas. Con el desarrollo de la clonación molecular, se ha descubierto que la misma proteína puede ser sintetizada por linfocitos, monocitos y diversas células tisulares, tales como las células endoteliales y algunas epiteliales. Por consiguiente, se ha adoptado el término genérico de citoquinas como nombre de elección para esta clase de mediadores.

Debido a que muchas citoquinas son producidas por leucocitos y actúan sobre otros leucocitos, también reciben el nombre de interleuquinas, aunque puedan ser producidas por otros tipos celulares (Peña 1994).

Estas sustancias son capaces de alterar de alguna manera el comportamiento de otras células (Gürgöze 2004). El uso de las citoquinas es cada vez mayor en situaciones clínicas y en estudios con animales para estimular o inhibir la inflamación, la inmunidad y la hematopoyesis. A menudo se hace referencia a las citoquinas como modificadores de la respuesta biológica (Abbas 2002). Las citoquinas actúan mediante unión a receptores. En función del lugar donde se localiza el receptor, las citoquinas pueden presentar acción autocrina, paracrina, o pueden liberarse a la circulación y otros fluidos orgánicos, ejerciendo su efecto en otros órganos y tejidos (Abbas 2002).

En cuanto a la respuesta inmune, las citoquinas actúan a dos niveles; en la fase de activación, estimulando el crecimiento y la diferenciación de los linfocitos, y en la fase efectora, activando a las distintas células efectoras para que eliminen los microorganismos y otros antígenos (Sheeran 1997).

En el fenómeno inflamatorio, habrá que considerar dos tipos (Peña 1994)

Citoquinas proinflamatorias : Interleuquina 1 (IL-1)

Interleuquina 6 (IL-6)

Interleuquina 8 (IL-8)

Factor de necrosis tumoral α (TNF α)

Interleuquina 12 (IL-12)

Interferón γ (INF- γ)

Citoquinas antiinflamatorias : Interleuquina 2 (IL-2)

Interleuquina 4 (IL-4)

Interleuquina 10 (IL-10)

Interleuquina 14 (IL-14)

Las proinflamatorias activan a macrófagos y polimorfonucleares (IL-1, TNF, INF) y linfocitos (IL-1, IL-12, TNF).

Las antiinflamatorias inhiben la activación de las células.

Propiedades generales de las citoquinas

1. Secreción breve y autolimitada

En general no se almacenan como moléculas preformadas. Su síntesis se inicia como resultado de una acción celular. Esta activación es transitoria ya que el ARN que las codifica es inestable. Una vez sintetizadas se secretan rápidamente, dando lugar a un pico de liberación en el momento en que son necesarias.

2. Pleiotropismo y redundancia

Pleiotropismo es la capacidad de una citoquina de actuar sobre distintos tipos celulares. Permite a una misma citoquina mediar diversos efectos biológicos, pero limita notablemente su uso terapéutico ya que la administración de una citoquina para un efecto clínico buscado puede causar numerosos efectos secundarios no deseados.

Redundancia es la propiedad de varias citoquinas de tener los mismos efectos funcionales. Debido a esta redundancia, los antagonistas de una citoquina o la inhibición selectiva del gen de una citoquina pueden no tener consecuencias funcionales, ya que otras citoquinas pueden suplir su función.

3. Influyen en la síntesis y acciones de otras interleuquinas (IL)

La capacidad de una IL para estimular la producción de otras da lugar a cascadas de citoquinas en las que una segunda o tercera citoquina puede mediar los efectos biológicos de la primera. Dos IL pueden interactuar entre sí con efectos sumativos, sinérgicos o antagónicos.

4. Acción local y sistémica

La mayoría de las citoquinas actúa cerca del lugar donde se producen, bien en la misma célula que la secreta (acción autocrina), bien en una célula próxima (acción paracrina). Cuando se producen en grandes cantidades pasan a circulación y pueden actuar a distancia del sitio de producción.

5. Acción mediante receptores de membrana

Las citoquinas, al igual que otras hormonas polipeptídicas, inician sus acciones uniéndose a receptores de membrana específicos presentes en las células diana. Los receptores de citoquinas a menudo se unen a sus ligandos con gran afinidad, por lo que basta con cantidades muy pequeñas de una citoquina para que aparezca su efecto biológico. La mayoría de las células expresa niveles bajos de receptores de citoquinas (del orden de 100 a 1000 receptores por célula), pero estos niveles parecen ser suficientes para inducir respuestas.

Diversas señales externas regulan la expresión de los receptores de citoquinas, y de esta manera, la capacidad de respuesta de las células a las citoquinas. Por ejemplo, la estimulación de los linfocitos T

o B por antígenos da lugar a un aumento de la expresión de receptores de citoquinas. Por este motivo, durante una respuesta inmunitaria los elementos que responden preferentemente a las citoquinas secretadas son los linfocitos específicos del antígeno. Este mecanismo mantiene la especificidad de las respuestas inmunitarias, a pesar del hecho de que las citoquinas no son específicas del antígeno. La expresión de receptores también está regulada por las citoquinas, incluidas otras citoquinas o incluso la misma citoquina que se une al receptor, lo que permite una amplificación positiva o una retroalimentación negativa.

6. Producen cambios en la expresión génica de sus células diana

Las respuestas celulares a la mayoría de las citoquinas consisten en cambios en la expresión génica de las células diana, lo que da lugar a la expresión de nuevas funciones, y en ocasiones, a la proliferación de las células diana. La excepción la constituyen las quimioquinas, que inducen una migración celular rápida sin expresión de nuevos genes y el TNF, que induce la muerte celular sin necesidad de sintetizar nuevas proteínas.

Tipos y funciones de citoquinas

De acuerdo con sus acciones biológicas se clasifican en tres categorías funcionales (Sheeran 1997):

a) *Mediadoras y reguladoras de la inmunidad innata.*

IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, TNF, quimioquinas.

Son citoquinas producidas por macrófagos mononucleares en respuesta a agentes infecciosos (productos virales o bacterianos, como el lipopolisacárido de la pared, que estimulan directamente a los macrófagos). También pueden ser secretadas por los linfocitos T.

La mayoría favorecen las reacciones inflamatorias tempranas frente a los microorganismos, y algunas controlan esas respuestas.

b) *Mediadoras y reguladoras de la inmunidad adaptativa.*

IL-2, IL-4, IL-5, INF- γ

Son producidas por los linfocitos T en respuesta específica al antígeno extraño. Algunas actúan regulando el crecimiento y la diferenciación de diversas poblaciones de linfocitos por lo que desempeñan papeles importantes en la fase de activación de la respuesta inmune dependiente de células T.

Otras reclutan, activan y regulan a células efectoras especializadas, como fagocitos mononucleares, neutrófilos y eosinófilos para eliminar antígenos en la fase efectora.

c) *Estimuladoras de la hematopoyesis*

IL-3

IL-7

Factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF)

Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF)

Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).

Son citoquinas producidas por células del estroma de la médula ósea, leucocitos y otras células. Estimulan el crecimiento y la diferenciación de los leucocitos maduros.

Las citoquinas influyen en la producción y el efecto de los neurotransmisores, están implicadas en la reparación tisular. IL-1 e IL-6 aumentan la expresión del factor de crecimiento nervioso (NGF).

Las citoquinas también tienen efectos a nivel del comportamiento, alteraciones del sueño y respuesta social a la enfermedad (Sheeran 1997)

Las citoquinas de mayor interés en nuestro estudio son las interleuquinas IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 y el TNF α . Para esta selección, nos hemos basado en la bibliografía, seleccionando las interleuquinas cuyos valores se afectan por el proceso de agresión quirúrgica (Angele 2005, Hildebrand 2005, Kudoh 2001, Ogawa 2000), interleuquinas con acción proinflamatoria (Wieczorek 2005, Borish 2003), e interleuquinas de efecto antiinflamatorio (Opal 2000, Standiford 2000). Por ello, desarrollaremos algo más la fisiología de estas moléculas.

Interleuquina 1

Inicialmente descrita como *pirógeno endógeno* o *factor activador de linfocitos*, esta citoquina se produce en respuesta al estímulo por agentes inductores de fiebre (Peña 1994). La principal función de la IL-1, al igual que la del TNF, es mediar la respuesta inflamatoria frente a infecciones y otros estímulos inflamatorios. Actúa junto al TNF en la inmunidad innata y en la inflamación. Existen dos formas de esta IL-1 que han sido clonadas y secuenciadas, IL-1 α e IL-1 β . Lo más sorprendente entre las variantes es la similitud de sus acciones, si se tiene en cuenta que sólo hay un 25% de homología en su secuencia aminoacídica (Re 1994) sin embargo, se unen a los mismos receptores de superficie y median las mismas actividades biológicas.

Ambos polipéptidos se sintetizan como precursores de 33kD y son secretados como proteínas maduras de 17kD. La forma activa de la IL-1 β es el producto escindido, pero la IL-1 α puede ser activa como precursor de 33kD y como producto escindido más pequeño (Abbas 2002). La IL-1 β es escindida por una proteasa, denominada enzima de conversión de la IL-1 β (ICE) para generar la proteína biológicamente activa. La ICE fue el primer miembro de una familia de cisteína proteasas, las caspasas, descrito en mamíferos. Muchos miembros de esta familia están implicados en la muerte celular por apoptosis en diversas células (Sheeran 1997).

Aunque los monocitos son la mayor fuente de esta interleuquina, también la producen casi todas las células del organismo bajo determinadas condiciones de estrés (Dinarello 1996). El fagocito mononuclear activado es la principal fuente no sólo de IL-1 sino también de TNF. Estas células producen IL-1 al desencadenarse la cascada por estímulos bacterianos

como el LPS o por el TNF. A diferencia del TNF, la IL-1 puede ser producida por muchos tipos celulares, como los neutrófilos, células epiteliales (queratinocitos) y células endoteliales (Baggiolini 1998). La propia IL-1 puede estimular su síntesis a través de un mecanismo de retroalimentación positiva (Sheeran 1997). El principal estímulo para la liberación de IL-1 es el lipopolisacárido bacteriano (LPS) (Dinarello 1991). Al igual que ocurre con el resto de las citoquinas existen receptores específicos para ellas en las células sobre las que actúan, y tanto en el caso de la IL-1 α como de la IL-1 β presentan un receptor común, lo que explicaría la similitud de los efectos biológicos. En circulación se encuentra mayoritariamente la forma β (Sheeran 1997). La vida media plasmática de la IL-1 es de, aproximadamente, 6 minutos (Linn 2000)

Presenta dos tipos de receptores. El receptor principal es el tipo 1, se encuentra en casi todos los tipos celulares. El receptor tipo 2 se encuentra en las células B y su función es captar IL-1, impidiendo que ésta ejerza su acción al no unirse al receptor tipo 1 (Dinarello 1996).

En general la IL-1 da lugar a dos clases de efectos. El primero a través de la estimulación celular del sistema inmune (mielopoyesis) y el segundo una respuesta inflamatoria a través de la producción de prostaglandinas y proteínas plasmáticas de fase aguda (Abbas. 2002).

Los efectos biológicos de la IL-1 son similares a los del TNF y dependen de la cantidad de citoquina producida. Cuando se secretan en concentraciones bajas, la IL-1 actúa como mediador de la inflamación local. Actúa sobre las células endoteliales aumentando la expresión de moléculas de superficie que median la adhesión leucocitaria, como los ligandos para integrinas (Luster 1998). Cuando se secretan en cantidades mayores, la IL-1 entra en la circulación y ejerce efectos endocrinos (Mantovani 1997). La IL-1 a nivel

sistémico comparte con el TNF la capacidad de producir fiebre, inducir la síntesis hepática de proteínas plasmáticas de fase aguda e iniciar el deterioro metabólico (Molloy 1993).

Las similitudes de las acciones de IL-1 y TNF son sorprendentes a primera vista, debido a que las dos citoquinas y sus receptores tienen estructuras muy diferentes. La explicación probable de estos efectos biológicos similares es que los receptores de ambas citoquinas realizan la señalización por medio de proteínas homólogas y activan los mismos factores de transcripción. Sin embargo, hay varias diferencias entre la IL-1 y el TNF, por ejemplo, la IL-1 no induce la muerte por apoptosis de las células e, incluso a concentraciones sistémicas altas, no causa shock séptico por sí misma (Abbas 2002).

Los fagocitos mononucleares producen un inhibidor natural de la IL-1, que es estructuralmente homólogo a la citoquina y se une a los mismos receptores, siendo biológicamente inactivo, por lo que actúa como inhibidor competitivo de la IL-1. Se denomina por tanto, antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra), es regulador endógeno de la acción de la IL-1. Sin embargo, los intentos de inhibir la acción de la IL-1 por IL-1ra o receptores solubles no han demostrado ser beneficiosos en ensayos clínicos en casos de shock séptico o artritis, quizá debido a la redundancia de las acciones de la IL-1 y el TNF (Dinarello 1996).

IL-1ra se libera al mismo tiempo que la IL-1 β , marcando el comienzo de la fase aguda de la respuesta inflamatoria. Según algunos autores, los niveles de IL-1ra correlacionan bastante bien con el grado de inflamación (Kuo 2006).

Este antagonista mitiga de forma importante la magnitud de la inflamación que provoca la IL-1.

Interleuquina 2

Inicialmente fue descrita como *factor de crecimiento de células T* debido al control que ejercía sobre la proliferación de estos linfocitos. Se produce casi exclusivamente por las células T en respuesta a estímulo antigénico. Es factor de crecimiento para los linfocitos T estimulados por el antígeno y es responsable de la expansión clonal de las células T tras el reconocimiento del antígeno. La IL-2 y su receptor son un ejemplo de mecanismo de regulación autocrina (Peña 1994).

La IL-2 es producida por los linfocitos T CD4+ y en menor cantidad por los T CD8+. La activación de las células T por antígenos y coestimuladores estimula la transcripción del gen de la IL-2 y la síntesis y secreción de esta proteína. La producción de IL-2 es transitoria, con una secreción máxima de unas 8-12 horas después de la activación (Abbas 2002). La IL-2 secretada es una glucoproteína de entre 14 y 17 kD que está plegada formando una proteína globular de cuatro hélices α . Representa el prototipo de las citoquinas de cuatro hélices α que interaccionan con receptores de citoquinas tipo I. La IL-2 se une a su receptor con baja afinidad, por lo que esta unión no da lugar a respuesta biológica detectable a menos que la concentración de IL-2 sea bastante alta (Theze 1996). Las células T que reconocen el antígeno también son las células que proliferan preferentemente en respuesta a niveles fisiológicos de IL-2 producidos durante las respuestas inmunitarias adaptativas. La unión de la IL-2 a su

receptor da lugar a la activación de varias vías de transducción de señales, incluida la vía de JAK/STAT, exclusiva de las citoquinas, y las vías de señalización de la fosfatidilinositol-3 quinasa y de Ras, que son activadas por numerosos tipos de receptores.

Esta citoquina se encuentra en circulación durante menos de 10 minutos (Linn, Calvano y Lowry, 2000), por lo que es difícil constatar incrementos o descensos tras estímulos como la cirugía. Sí se ha asociado una menor expresión de IL-2 a heridas importantes y transfusiones sanguíneas en el perioperatorio (Oka 1996).

Desde el punto de vista clínico, un aumento del nivel de receptores de IL-2 en suero es marcador de una estimulación antigénica potente, por ejemplo, en el rechazo agudo de un órgano trasplantado (Abbas 2002).

En cuanto a sus acciones, la IL-2 es responsable de la proliferación celular, induce la progresión del ciclo celular por medio de la síntesis de ciclina D2 y E (quinasas que fosforilan proteínas que estimulan el paso de la fase G1 a fase S). También elimina el bloqueo de la progresión del ciclo mediante la degradación de p27, proteína que inhibe las acciones ciclina-quinasa (Sheeran 1997). Por tanto, la IL-2 induce la progresión del ciclo celular por medio de la síntesis de ciclina y elimina el bloqueo de la progresión del ciclo. Además favorece la supervivencia de las células T al inducir la proteína antiapoptótica Bcl-2 (Abbas 2002). La principal acción de la IL-2 es autocrina, pero puede estimular la proliferación de algunas células T adyacentes actuando como factor de crecimiento paracrino (Sheeran 1997).

Aumenta la producción de INF γ e IL-4 por las células T.

Estimula la proliferación y diferenciación de células inmunitarias, por ejemplo las células NK, de las que también potencia su acción citolítica,

produciendo las llamadas células citocidas activadas por linfoquinas, esto sólo ocurre a concentraciones altas de IL-2 (Sugamura 1996) . En los linfocitos B, actúa como factor de crecimiento y como estímulo para la síntesis de anticuerpos.

La IL-2 potencia la muerte apoptótica de las células T activadas por el antígeno. La activación de las células T en presencia de IL-2 sensibiliza a estas células frente a la apoptosis por la vía de Fas. Es contradictorio que la misma citoquina pueda estimular la supervivencia y la proliferación de las células T por un lado, e inducir la muerte celular por el otro. Parece que si una respuesta inmunitaria es persistente y las células T son expuestas a cantidades crecientes de IL-2, las acciones proapoptóticas pasan a ser dominantes, contribuyendo a la terminación de la respuesta (Abbas 2002). En ratones con inhibición génica de la IL-2, su receptor IL-2R α o IL-2R β se desarrolla autoinmunidad pero no inmunodeficiencia, lo cual podría reflejar un papel obligatorio de la IL-2 en la eliminación de las células T estimuladas de forma reiterada, por ejemplo por autoantígenos (Sugamura 1996).

La IL-2 tiene efectos antinociceptivos. Puede ser un potencial fármaco para el tratamiento del dolor neuropático, en el que la morfina no es efectiva (Song y Zhao, 2000).

Interleuquina 4

Denominada inicialmente factor de crecimiento de células B, la IL-4 es el estímulo más importante para la producción de anticuerpos IgE y para el desarrollo de células TH2 a partir de células T colaboradoras CD4+ vírgenes. La IL-4 es la citoquina característica de la subpoblación TH2 y actúa como inductora y efectora de esas células (Abbas 2002).

Es miembro de la familia de las citoquinas con cuatro hélices α . Las fuentes celulares más importantes de IL-4 son los linfocitos T CD4+ de la subpoblación TH2, así como los basófilos y mastocitos activados. La forma madura posee 124 aminoácidos con dos posibles lugares de glicosilación, aunque como en otras citoquinas, dicha glicosilación no parece ser necesaria para su actividad biológica. El receptor de IL-4 de células linfoides pertenece a la familia de receptores de citoquinas tipo I. Transmite señales por la vía de JAK/STAT y por una vía en la que interviene el sustrato de respuesta a la insulina (IRS). La IL-4 es la única citoquina que activa a la proteína STAT6, responsable de muchas acciones de la IL-4, como la diferenciación de TH2 y el cambio de isotipo de las células B a IgE. La activación de la vía IRS-2 es responsable de la proliferación celular inducida por la IL-4.

La IL-4, el factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos y el interferón γ muestran el mismo modelo de organización genética, posiblemente tengan alguna relación filogenética.

Las acciones biológicas de la IL-4 inducen reacciones mediadas por IgE y mastocitos/eosinófilos e inhiben las reacciones dependientes de macrófagos.

IL-4 es la principal citoquina que estimula el cambio de la cadena pesada de las inmunoglobulinas del linfocito B al isotipo IgE. Los ratones con inhibición génica selectiva de IL-4 presentan niveles inferiores al 10% de los valores normales. Los anticuerpos IgE intervienen también en la defensa mediada por eosinófilos frente a las infecciones por artrópodos y helmintos, siendo ésta la principal función de la subpoblación TH2 en la defensa del huésped. La IgE también es el principal mediador de las reacciones de hipersensibilidad inmediata, la producción de IL-4 es importante para el desarrollo de las alergias (Sheeran 1997). IL-4 inhibe el cambio de isotipos a IgG2a e IgG3 en ratones.

El principal papel de la IL-4 in vivo es promover la proliferación de los linfocitos B que han sido activados por un antígeno; estimula el desarrollo de TH2 a partir de células T CD4⁺ vírgenes y actúa como factor de crecimiento autocrino para las células TH2 diferenciadas. Por tanto, la IL-4 es responsable de la inducción y expansión de esta subpoblación. Los ratones con inhibición génica selectiva de IL-4 o STAT6 muestran una deficiencia en el desarrollo y el mantenimiento de las células TH2, incluso tras estímulos como las infecciones por helmintos. En esta función de la diferenciación de los linfocitos Th2 inmaduros células T helper están implicadas también IL-5 e IL-13. Aunque los linfocitos B son su principal diana, otras células presentan en su superficie el receptor de 60KD al que se une la IL-4, la expresión de este receptor en los linfocitos B y T puede ser regulada positivamente por la propia IL-4 (Opal 2000). La respuesta de los linfocitos B a la IL-4 puede ser inhibida por el interferón γ .

La IL-4 antagoniza los efectos de activación de los macrófagos del INF γ , inhibiendo las reacciones de inmunidad celular. Este podría ser uno de los

mecanismos por los que las células TH2 actúan como inhibidores de la inflamación inmunitaria (Stark 1998).

La IL-4 inhibe la expresión y liberación de las principales citoquinas proinflamatorias; IL-1, IL-6, IL-8 y TNF (Opal 2000) y reduce la producción de radicales libres de oxígeno (Linn 2000). Parece que también aumenta la susceptibilidad de los macrófagos al efecto antiinflamatorio de los corticoides.

Interleuquina 6

Hasta que la IL-6 fue clonada y secuenciada, la mayoría de sus efectos fueron asignados al INF- β 2. La IL-6 es producida por linfocitos T activados, monocitos/macrófagos, fibroblastos y por células endoteliales, en respuesta a microorganismos y a otras citoquinas, principalmente a IL-1 y TNF. La forma funcional de la IL-6 es un homodímero en el que cada subunidad forma un dominio globular de cuatro hélices α . El receptor de la IL-6 consta de una proteína de unión a citoquinas y una subunidad transductora de señales; ambas pertenecen a la familia de receptores de citoquinas tipo I.

La actividad biológica de esta interleuquina es tan amplia que es difícil saber cuál es su función principal, posiblemente sea la capacidad de promover la diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas, también la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado, en respuesta a una lesión o a inflamación (Linn 2000). Al estimular la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos contribuye a los efectos sistémicos de la

inflamación, la llamada respuesta de fase aguda, mientras que en la inmunidad adaptativa estimula el crecimiento de los linfocitos B que se han diferenciado a células productoras de anticuerpos. La IL-6 actúa asimismo como factor de crecimiento para células plasmáticas neoplásicas (mielomas), y muchas células de mieloma que crecen de forma autónoma secretan IL-6 como factor de crecimiento autocrino (Abbas 2002). Además, la IL-6 induce el crecimiento de hibridomas productores de anticuerpos monoclonales, derivados de mielomas.

Asimismo, la IL-6 puede aumentar la producción de IL-2 y el desarrollo de los precursores hematopoyéticos.

Su función es primordialmente proinflamatoria, aunque también tiene carácter antiinflamatorio (Opal 2000) ya que promueve la liberación de glucocorticoides (Ruzick 1997). Como proinflamatoria es un importante promotor de las proteínas de fase aguda, induce la activación de los macrófagos tras la incisión y durante la fase inflamatoria, además de fomentar los efectos deletéreos de estas células al retrasar su envejecimiento.

(Linn 2000). Cuando se comporta como antiinflamatoria, atenúa la actividad de IL-1 β y TNF α y promueve la liberación de los antagonistas de sendas moléculas (Tilg 1994)

Cuando se libera en la respuesta inflamatoria puede producir hiperalgesia persistente (Kuo 2006). Modula el dolor de forma indirecta, alterando la transmisión de la señal dolorosa mediante la liberación de sustancias neuroactiva, como el óxido nítrico, radicales libres de oxígeno y aminoácidos excitadores (Watkins 2003).

Recluta monocitos y neutrófilos al lugar de la inflamación. Su expresión aumenta tras el momento de la incisión (Kuo 2006), detectándose sus

niveles en plasma durante 60 minutos, con un pico máximo a las 4-6 horas de la intervención, que persiste durante 10 días (Linn 2000). Los niveles circulantes de IL-6 parecen ser proporcionales a la extensión de la agresión (Choleain 2006). La elevación de esta citoquina correlaciona con el desarrollo de complicaciones postoperatorias.

Interleuquina 10

Es la citoquina antiinflamatoria más importante (Opal 2000).

Esta citoquina fue encontrada en el sobrenadante de cultivo de células T Helper tipo II en el sistema murino y caracterizada como un factor inhibidor de la síntesis de citoquinas de clones de células T Helper tipo I. En el hombre se obtuvo a partir de cDNA de linfocitos TCD4+ específico para la toxina del tétanos (Sheeran 1997).

Principalmente producida por macrófagos activados, inhibe las funciones de éstos, por lo que es ejemplo claro de regulación por retroalimentación negativa (Steinke y Borish 2006). Interviene en el control homeostático de las reacciones de la inmunidad innata y de la inmunidad celular, inhibiendo las respuestas inmunitarias del paciente. También induce la regulación de las células T Helper. La liberación prolongada de IL-10 ha sido claramente asociada a complicaciones infecciosas tras la cirugía. (Volk 2003).

Los efectos biológicos de la IL-10 derivan de su capacidad de inhibir muchas funciones de los macrófagos activados, para restablecer el estado de reposo del organismo una vez erradicada la infección (Conti 2003).

Inhibe fundamentalmente la síntesis de INF γ , TNF β , IL-12 y otras citoquinas producidas por células mononucleares de sangre periférica.

Se ha demostrado que la IL-10 es, junto con la IL-3 y la IL-4, cofactor para el crecimiento de líneas y colonias de células mastocíticas *in vitro* (Conti 2003). La IL-10 estimula la proliferación de células B humanas en cultivo, pero se desconoce la importancia fisiológica de esta acción (Abbas 2002). Influye en el desarrollo de timocitos y células T. Parece muy probable que estas funciones las ejerza a través de la regulación de la respuesta inmune modulando las funciones de las células accesorias (APC) (Akdis 1998).

También inhibe la expresión de coestimuladores y moléculas de clase II en los macrófagos (Steinke 2006).

Al igual que la IL-4, es capaz de inhibir la producción de citoquinas derivadas de las células NK estimuladas por IL-2, pero no induce inhibición de las células LAK. El efecto sobre NK parece ser indirecto y mediado probablemente por los monocitos y macrófagos, en los que inhibe la producción de IL-1, IL-6 y TNF α (Moore 1993).

En ratones con inhibición génica selectiva de la IL-10 se desarrolla enfermedad inflamatoria intestinal, presumiblemente debido a una activación incontrolada de macrófagos que reaccionan frente a microorganismos entéricos. Estos ratones también presentan una lesión tisular e inflamación excesivas en respuesta a irritantes químicos (Abbas 2002).

El virus de Epstein-Barr tiene un gen homólogo al de la IL-10 humana, y la IL-10 viral tiene *in vitro* las mismas acciones que la citoquina natural (Abbas 2002).

La IL-10 es la citoquina más representativa de la inhibición de la respuesta inflamatoria aguda tras la cirugía (Edelson 1999).

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)

Los factores de necrosis tumoral fueron descritos inicialmente como una serie de factores que podían producir la regresión de algunos tumores. Actualmente se sabe que ejercen muchas otras acciones.

El TNF α es el mediador principal de la respuesta inflamatoria aguda frente a las bacterias gramnegativas y a otros microorganismos infecciosos, y es responsable de muchas de las complicaciones sistémicas de las infecciones graves. Fue identificado inicialmente como una sustancia que se encontraba en el suero de animales tratados con lipopolisacárido bacteriano (LPS), o endotoxina, y causaba necrosis tumoral in vivo (Peña 1994). Este efecto se debe a una complicación patológica producida por concentraciones elevadas de TNF (Abbas 2002).

El TNF α es un complejo de tres cadenas polipeptídicas producido principalmente por los macrófagos tras estímulo nocivo. Aunque también puede ser secretado por células T estimuladas por antígenos, células NK y mastocitos. El estímulo más potente para inducir la producción de TNF α por los macrófagos es el LPS. El interferón- γ producido por las células T y las NK, aumenta la síntesis de TNF α por los macrófagos estimulados por el LPS (Baggiolini 1998). En los fagocitos mononucleares es sintetizado como una glicoproteína de membrana con un extremo amino terminal intracelular y un extremo carboxiterminal extracelular. La parte extracelular se libera gracias a una metaloproteasa (tace) dando lugar a la forma soluble del TNF. Aunque la forma de membrana también es activa, la mayoría de los efectos se deben a la forma soluble, por su mayor concentración (Abbas 2002). El TNF de membrana se expresa como un homotrímero y constituye el ligando para un tipo de receptor de TNF (TNF-RII). El TNF nativo adopta

una forma de pirámide triangular en la que cada lado está formado por una subunidad. Los sitios de unión al receptor se encuentran en la base de la pirámide, lo que permite la unión de una citoquina a más de un receptor. $TNF\alpha$ y $TNF\beta$ comparten un receptor común, que se expresa por la mayoría de las células del organismo, pero sus niveles pueden ser modulados por otros agentes. Por ejemplo, la inducción de este receptor aumenta notablemente tras la activación de los linfocitos T, y aumenta mucho más cuando las células son tratadas con interferón (Tartaglia 1992).

Las IL-1 e IL-2 aumentan la liberación del TNF (Borish 2003).

Su principal función es la estimulación y reclutamiento de neutrófilos y monocitos al foco de infección y activación de los mismos para erradicar microorganismos (Borish 2003). Además puede tener otros efectos locales, como estimular la producción de moléculas de adhesión en las células del endotelio vascular, que provocan la adhesión de los leucocitos. También estimulan la secreción de quimioquinas en las células endoteliales, que inducen la quimiotaxis y el reclutamiento de leucocitos. El TNF actúa sobre los fagocitos mononucleares para estimular la secreción de IL-1, que actúa de forma similar al TNF. Éste es un ejemplo de cascada de citoquinas que tienen acciones biológicas similares o complementarias (Mantovani 1997).

Además de su papel en la inflamación, el TNF induce la apoptosis de algunos tipos celulares. Se desconoce la importancia fisiológica de esta respuesta (Abbas 2002). Las acciones del TNF sobre el endotelio y sobre los leucocitos son críticas para la respuesta inflamatoria local frente a los microorganismos. Si hay cantidades insuficientes de TNF (por ejemplo, en animales tratados con anticuerpos neutralizantes anti-TNF o en ratones con inhibición génica selectiva del TNF), una consecuencia puede ser el fracaso

en la contención de las infecciones (Mantovani 1997). El TNF también contribuye a reacciones inflamatorias locales que son dañinas para el hospedador, por ejemplo, en las enfermedades autoinmunes. Los anticuerpos neutralizantes del TNF y de sus receptores solubles, son un tratamiento prometedor para reducir la inflamación en pacientes con artritis reumatoide y enfermedad inflamatoria intestinal (Abbas 2002).

Aparte de sus efectos locales en el foco inflamatorio, en agresiones graves o procesos crónicos el TNF se encuentra elevado (Linn 2000) causando importantes alteraciones sistémicas, histológicas y clínicas, si el estímulo para la producción de TNF es suficientemente intenso, se producen cantidades tan grandes de la citoquina que ésta entra en el torrente sanguíneo y actúa a distancia, como una hormona endocrina. Las principales acciones sistémicas del TNF son las siguientes:

- Actúa sobre el hipotálamo induciendo fiebre (Sheeran 1997). La producción de fiebre está mediada por el aumento de la liberación de prostaglandinas por las células del hipotálamo estimuladas por las citoquinas. Los inhibidores de la síntesis de prostaglandinas, como el ácido acetilsalicílico, reducen la fiebre bloqueando esta acción del TNF o de la IL-1 (Abbas 2002).
- Aumenta la síntesis hepática de proteínas séricas como la proteína A amiloide sérica y el fibrinógeno. La combinación de las proteínas plasmáticas derivadas de los hepatocitos inducidas por el TNF y por las interleuquinas 1 y 6, constituyen la respuesta de fase aguda a estímulos inflamatorios (Luster 1998).
- El TNF α también se ha llamado caquexina, por su papel en el metabolismo exacerbado que se produce en la caquexia (Beutler 1989),

estado caracterizado por la pérdida de células musculares y adiposas. La caquexia es debida en gran parte a la supresión del hambre que induce el TNF, que también inhibe la síntesis de lipoproteínlipasa, enzima necesaria para liberar los ácidos grasos de las lipoproteínas circulantes de manera que puedan ser utilizados por los tejidos (Abbas 2002).

- A altas concentraciones inhibe la contractilidad miocárdica y el tono del músculo liso vascular, reduciendo de manera importante la presión arterial. pudiendo llegar al shock (Luster 1998).
- Produce trombosis intravascular por la pérdida de las propiedades anticoagulantes del endotelio. El TNF estimula en las células endoteliales la expresión del factor tisular, un activador potente de la coagulación, e inhibe la expresión de la trombosmodulina, inhibidora de la coagulación. Esta alteraciones vasculares se exacerbaban por la activación de los neutrófilos, la cual da lugar a taponamiento vascular por estas células. La capacidad de esta citoquina de causar necrosis de tumores se debe principalmente a la trombosis de los vasos sanguíneos del tumor (Abbas 2002).
- Produce alteraciones metabólicas graves como la reducción de la glucosa a niveles incompatibles con la vida. Esto se debe a la utilización excesiva de la glucosa por el músculo y a la incapacidad del hígado para reponerla (Sheeran 1997).

Una complicación de la sepsis bacteriana por gramnegativos es un síndrome llamado shock séptico (o shock por endotoxinas) que se caracteriza por colapso vascular, coagulación intravascular diseminada y alteraciones metabólicas. La concentración de TNF sérico puede ser pronóstica del desenlace de las infecciones graves por gramnegativos. El

shock séptico puede reproducirse en animales de experimentación mediante la administración de TNF. Los antagonistas del TNF pueden prevenir la mortalidad en los modelos experimentales, aunque los ensayos clínicos no han mostrado efectos beneficiosos en pacientes con sepsis. Se desconocen las causas de este fracaso terapéutico, pero podría deberse a que otras citoquinas provocan las mismas respuestas que el TNF, por la propiedad de redundancia (Abbas 2002).

La vida media plasmática de esta citoquina es inferior a 20 minutos, es junto con la IL-1, de las primeras en aparecer tras la agresión, y alcanza su pico máximo a las 2 horas del inicio de la misma (Gormley 2001).

1.3 Agresión quirúrgica y liberación de citoquinas

Se denomina estrés quirúrgico al estrés producido por el traumatismo que se induce en el paciente en la cirugía (Valladares 2000, López-Candel 1994). Engloba las alteraciones debidas a la cirugía, que pueden sumarse a las propias de la patología del paciente (Suits 1987, Coran 1995) y que se citan en la literatura científica como una de las causas, junto a otros agentes estresantes, que desencadenan las alteraciones secretoras del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal (Desborough 2000, Rainer 1999, Sedowofia 1998, Zeevi 1998, , Howanitz 1995, Rosendahl 1995) así como modificaciones en el comportamiento hemodinámico y psicoconductual del enfermo (Aono y 1997).

El estrés quirúrgico va seguido de profundos cambios endocrinos y metabólicos que afectan en gran modo a las defensas del paciente y sobretodo al desarrollo de la recuperación de la agresión que supone el acto quirúrgico.

Estos cambios endocrinos presumiblemente afectan directamente al sistema inmune, o bien activan el eje hipotálamo-hipofiso-adrenal y el sistema simpático (Schinkel 2006).

Esta respuesta hormonal a la cirugía, ampliamente estudiada en el adulto, se encuentra aún por delimitar con precisión en la edad pediátrica, dada la labilidad neurovegetativa del niño, que conlleva una mayor variabilidad de los parámetros fisiológicos considerados, además de las limitaciones éticas que comporta la investigación biomédica en estas edades de la vida (Valladares 2000, López-Candel 1994)

El estrés quirúrgico y el dolor “*per se*” están relacionados con una supresión del sistema inmune, que conlleva una mayor susceptibilidad a infecciones, y en los casos más acentuados, al desarrollo de tumores (White 2005).

El estrés quirúrgico generalmente se mide en función de la denominada “Escala de Oxford”, diseñada por Anand y Aynsley-Green (Anand 1988). Esta escala, inicialmente desarrollada para niños pequeños, fue modificada para niños mayores por Platt (Ward Platt 1990), considerando sólo dos valores definitorios de bajo o alto estrés quirúrgico, cuando la puntuación de Oxford resulta inferior o superior a 6, respectivamente.

La escala de Oxford modificada ha sido utilizada con excelentes resultados por varios autores como medida del estrés quirúrgico en el paciente pediátrico (Ramírez 2003, Palacio 1997, López 1997).

Entre los métodos fisiológicos utilizados para el estudio del efecto traumático que la cirugía provoca en los niños, ha adquirido un interés creciente en los últimos años el estudio de vectores endocrinológicos, tales como los integrantes del eje hipofiso-suprarrenal; la hormona adrenocorticotropa (ACTH), la β -endorfina y el cortisol, entre otros (Valladares 2000, López-Candel 1994)

El trauma quirúrgico y el dolor postoperatorio provocan una respuesta endocrina caracterizada por un aumento de los niveles plasmáticos de cortisol, glucagón y catecolaminas, entre otras hormonas. Diversos estudios se basan en la determinación de β -endorfina en líquido cefalorraquídeo o plasma, los niveles plasmáticos de cortisol, ACTH, catecolaminas, insulina y de hormona de crecimiento para evaluar el dolor y el estrés quirúrgico en la infancia (Castejón 2001, Valladares 2000, Palacio 1997, López-Candel).

Estudios experimentales y clínicos evidencian que el estrés quirúrgico afecta profundamente al sistema inmune, incluyendo tanto la respuesta específica como la inespecífica (Kawasaki 2007). Mientras que la cirugía menor parece estimular algunos componentes del sistema inmune, se acepta generalmente que la cirugía mayor, aunque asociada a una respuesta local aguda, causa inmunosupresión (Romeo 2002, Hensler 1997).

En el postoperatorio inmediato se podría definir una etapa de defensa deficiente y aumento de la susceptibilidad a infecciones y complicaciones sépticas. Es posible que esta inmunosupresión comience incluso durante la cirugía (Kawasaki 2007).

La inmunidad depende de forma crítica de una adecuada relación Th1/Th2 y del balance apropiado de citocinas (Menger 2004). La proporción entre células Th1/Th2 es importante en la activación celular y la interacción entre macrófagos y linfocitos T. El trauma inducido por la cirugía deteriora la función inmune mediante la alteración de este sistema regulador, ya que se altera el perfil de las citoquinas que promueven la expresión de estos tipos celulares (Faist 1996)

El deterioro de la función inmune por el estrés quirúrgico se debe a la desintegración de estos complejos sistemas reguladores (Faist 1996).

En la última década, estudios experimentales y clínicos han profundizado en el conocimiento de la fisiopatología de la disfunción inflamatoria, ya que es un requisito previo para la elaboración de estrategias preventivas y terapéuticas en la práctica clínica (Menger y Vollmar 2004).

El estrés quirúrgico induce un fase de respuesta aguda, que es capaz de controlar el daño tisular, evitando infecciones e induciendo un proceso reparador para restaurar la homeostasis (Sheeran 1997).

La fase de respuesta aguda se inicia localmente, en el sitio de la cirugía, por macrófagos y monocitos, que liberan citoquinas proinflamatorias, en particular $\text{TNF}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$. Estudios de los años 90 sugerían que la inflamación excesiva que sigue a la intervención quirúrgica se debía principalmente a la liberación exagerada de estas dos sustancias que, además, eran responsables de una elevada mortalidad y riesgo aumentado de síndrome de distrés respiratorio y fallo multiorgánico (Cruinckshank 1990). Dichos estudios se basaban en que estos síndromes se producen por una abrumadora respuesta autodestructiva. Sin embargo, aunque se ha confirmado que el politraumatismo, la pérdida sanguínea y la sepsis se asocian con una masiva respuesta de citoquinas, y que los altos niveles plasmáticos de las mismas se correlacionan de forma significativa con el aumento de complicaciones en las infecciones y mayores tasas de mortalidad (Martin 1997), sólo se producen ligeros cambios (a veces irrelevantes) en los niveles plasmáticos de $\text{TNF}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$ (Mokart 2002). Esto puede deberse a que las citoquinas ejercen su acción en el mismo sitio donde se liberan (McBride 1996) o a que el pico de estas citoquinas se haya perdido en el análisis, ya que estas citoquinas tienen una vida media relativamente corta, sobre unos veinte minutos (Bocci 1994).

En la fase aguda de la inflamación postquirúrgica, $\text{TNF}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$ estimulan la producción y liberación de otras citocinas, como la IL-6 , cuyo pico plasmático se produce entre las 4-48 horas tras la cirugía (Desborough 2000). La liberación de IL-6 se correlaciona con la duración de la cirugía (Shenkin 1989) y la duración de la ventilación mecánica en la UCI (Mokart 2002). También está relacionada con la extensión del trauma tisular (Cruickshank 1990).

Las citoquinas proinflamatorias tienen un amplio espectro de actividad cardiovascular facilitando la adhesión de plaquetas y leucocitos al endotelio vascular y promoviendo las propiedades procoagulantes del mismo por inducción de la activación plaquetaria y disminución de la trombomodulina (Hennein 1994)

La IL-1 e IL-2 son las principales citoquinas que median la respuesta inmune mediada por células (Álvarez 2006).

Publicaciones previas sugieren que podría tener lugar una respuesta inmune celular disminuida, lo que lleva a algunos pacientes a un estado de inmunocompromiso, que facilita las infecciones en el postoperatorio temprano (Markewitz 1993).

El endotelio vascular cumple un papel fundamental en la respuesta sistémica al trauma. El concepto de activación de endotelio es importante en la comprensión del daño endotelial posterior a una cirugía agresiva. Bajo condiciones de reposo el endotelio es una superficie relativamente inerte que regula el flujo de sustratos intravasculares al espacio extravascular y el equilibrio biológico, que se inclina a la vasodilatación, resistencia plaquetaria, anticoagulación, fibrinólisis y resistencia leucocitaria. Cuando hay señales de inflamación como hipoxia, radicales libres, productos de activación de complemento, citocinas, las células endoteliales se activan produciéndose cambios profundos en la expresión génica, predominan entonces acciones opuestas a las mencionadas: vasoconstricción, antifibrinólisis, precoagulación, agregación leucocitaria, migración, proliferación celular y aumento de la permeabilidad vascular. (Di Corletto, 1997).

La clásica respuesta a la agresión es beneficiosa ya que recluta neutrófilos y promueve un mecanismo de coagulación que limita la amplitud de la

agresión. Generalmente esto es bien tolerado a nivel local. Sin embargo la respuesta sistémica del organismo a la agresión quirúrgica no es de igual forma tolerada. Los mecanismos de feed-back parecen ser menos efectivos a nivel sistémico llevando a una respuesta inespecífica y perjudicial.

La relación entre la severidad del trauma tisular y la liberación de IL-6 queda demostrada por varios estudios (Faist 1996, Romeo 2002, Hensler 1997) que indican que, a igual duración de la cirugía, se produce mayor elevación de IL-6 tras intervenir la aorta abdominal o cirugía colorectal, que en intervenciones más leves, como la recolocación de cadera (Menger 2004). También se demuestra en numerosos estudios que los procedimientos por laparoscopia dan lugar a una elevación mucho menor de IL-6 que en el caso de intervenciones con apertura de la cavidad abdominal, como colecistectomías y resecciones de colon (Hildebrandt 2003).

La IL-6 es un efector primario en la producción de proteínas de fase aguda, como la proteína C reactiva (cpr), la alfa-2-macroglobulina, antiproteasas y fibrinógeno, mediadores que están implicados en la inflamación específica e inespecífica como mediadores inflamatorios, e inhibidores de proteasas (Tschoeke 2007, Baumann y Gauldie 1994).

Los estudios de Hildebrandt de 1999 y 2003 ponen de manifiesto la relación entre los altos niveles de IL-6 y cpr y neutrófilos. Los altos niveles de IL-6 pueden afectar a los linfocitos polimorfonucleares (PMN). La IL-6 juega un papel importante en la proliferación de los precursores de estos PMN en la médula ósea, de modo que en algunos casos de trauma mecánico se observan formas inmaduras de los glóbulos circulando en sangre.

La IL-6 también modula las funciones de los polimorfonucleares maduros (Biff 1996).

Tras colecistectomías abiertas, en las que se eleva bastante la IL-6, el anión superóxido liberado por los PMN y la quimiotaxis están aumentados, respecto de los niveles que se alcanzan en intervenciones de menor estrés quirúrgico, como puedan ser las laparoscopias (Redmon 1994).

Cuando se emplean anticuerpos antiIL-6 se evita en parte el estrés oxidativo de los PMN, por lo que se considera a la IL-6 como uno de los principales estímulos de los PMN en la circulación. (Simms 1994),

Otros estudios experimentales muestran que, tras laparotomía, la externalización del mesenterio da lugar a un marcado aumento de los leucocitos en las vénulas, debido a un aumento de la diapédesis y la adhesión (Fiebig 1991). El mecanismo por el que se dan estas interacciones tras cirugía implica al TNF α . También en este caso el empleo de anticuerpos antiTNF disminuye la migración y la adhesión de los leucocitos (Sasaki 2007).

En los procesos inflamatorios, las interacciones de los leucocitos con las células del endotelio se regulan de un modo complejo, a través de la expresión de moléculas de adhesión, selectinas e integrinas. Estas moléculas parecen estar implicadas en la agresión quirúrgica (Boldt 2004). La cirugía mayor eleva los niveles séricos de P-selectina, E-selectina, ICAM-1, VCAM-1 (Boldt 2004, Sasajima 2002) y los antígenos CD11a y CD11b. Todas estas moléculas participan en la reparación tisular, diferenciación, crecimiento, comunicación y movilización celular (Menger 2004).

La agresión quirúrgica da lugar a un desequilibrio entre las citoquinas. La IL-6, aparte de su acción proinflamatoria, actúa como regulador de otras citoquinas y puede comportarse como antiinflamatoria (Biffi 1996, Menger 2004). En la fase aguda de la inflamación potencia la síntesis de glucocorticoides y disminuye la expresión de $TNF\alpha$ e $IL-1\beta$ (Xing 1998). Estimula la liberación por parte de los macrófagos de mediadores antiinflamatorios, como el IL-1ra y receptores solubles de TNF; TNFsr-I y TNFsr-II (Tilgh 1994).

Además, en la fase aguda de la inflamación, la IL-6 induce a los macrófagos a liberar prostaglandina E2 (PGE2) (Sheeran y Hall 1994), sustancia que probablemente sea el supresor endógeno más potente de la respuesta inmune. La PGE2 inhibe la mitogénesis de las células T, la producción de IL-2 y la expresión de receptores de IL-2 (Phipps 1991).

La PGE2 ejerce control negativo sobre la síntesis de $TNF\alpha$ e $IL-1\beta$ por los macrófagos, mediante la elevación intracelular del AMP cíclico (Menger 2004).

Finalmente, la PGE2 aumenta la liberación de la IL-10, de potente acción antiinflamatoria, también implica a la IL-4 (Ayala 1994).

La IL-6 es capaz de regular a la baja las citoquinas proinflamatorias y ejercer ella misma acciones antiinflamatorias, de modo que el resultado puede llegar a ser un desequilibrio, que se manifiesta clínicamente por el síndrome de respuesta antiinflamatoria compensatorio (Mokart 2002).

La inmunosupresión inducida por el trauma quirúrgico se caracteriza por bajos niveles de $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-12$ e $INF\gamma$ y altos niveles de IL-6, IL-10 e IL-1ra (Ogawa 2000, Mokart 2002). Estos resultados han sido

posteriormente corroborados por estudios que demuestran una reducción del trauma quirúrgico mediante el uso de laparoscopia mínimamente invasiva, que reduce de forma significativa los niveles de IL-6 e IL-10, y restaura los valores de TNF α , IL-2 e INF γ (Hildebrandt 2003).

En cuanto a la inmunidad celular, también se afecta por el desequilibrio de citoquinas que conlleva la agresión quirúrgica. La PGE2 desactiva los monocitos, con una caída en los niveles de TNF α e IL-6, incluso cuando se estimula con LPS. También implica a la IL-10 en la desactivación de los monocitos. Otra sustancia que contribuye a esta desactivación, es el factor de crecimiento transformante (TGF- β). Hemorragias importantes y cirugías de alto estrés, como puede ser la reparación de un aneurisma de aorta toracoabdominal, inducen un aumento del TGF- β circulante (Hafez 2000), lo que se relaciona con un marcado descenso de la presentación de antígeno (Tschoeke 2007). La idea de que el TGF- β contribuye a la desactivación de los macrófagos también ha sido comprobada por la restauración de la presentación de antígeno al tratar con anticuerpos antiTGF- β 1,2 y3 (Giamarellos 2006).

Numerosos estudios (Romeo 2002, Martin 1997, Glaser 1995) muestran que la modulación de los linfocitos T-Helper (Th) participa en la inmunosupresión que sigue a la intervención quirúrgica. Las células Th pueden subdividirse en dos grupos funcionalmente distintos: Th1 y Th2.

Las células Th1 dan lugar a respuesta proinflamatoria mediante la producción de IL-2, IL-12 e INF γ , mientras que los linfocitos Th2 actúan como antiinflamatorios, dando lugar a la producción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. Hensler y colaboradores (1997) demostraron que, durante las

primeras horas del postoperatorio de una cirugía mayor, la secreción de citoquinas de los linfocitos T se redujo para IL-2, TNF α e INF γ (asociadas a células Th 1) y sin embargo la IL-10 antiinflamatoria aumentó, si bien en un período posterior. La inmunosupresión que conlleva la cirugía de alto estrés decanta el equilibrio Th1 /Th2 hacia la respuesta Th2.

Bajo condiciones de inmunosupresión por una cirugía agresiva, en la que adicionalmente haya que trasfundir sangre, se puede dar una respuesta inmune deletérea. Los linfocitos Th1 liberan citoquinas proinflamatorias como las ya citadas IL-1, IL-2, TNF α , INF γ y también factor estimulante de colonias granulocito-macrófagos (GM-CSF), que ataca a las células del hospedador. Por otra parte la sangre trasfundida puede generar una respuesta Th2 dominante, asociada a una caída en el recuento de linfocitos, regulación a la baja de las células presentadoras de antígeno y liberación de cortisol. Este efecto modulador puede dar lugar a un agravamiento de la inmunosupresión inducida por la cirugía (Klein 1999).

La cirugía mayor se asocia a disfunción de los neutrófilos: se reduce el quimiotactismo, su capacidad fagocítica y la producción de aniones superóxido (Redmond 1994).

El TNF α y la IL-1 β inducidos por el lipopolisacárido de la pared bacteriana (LPS) juegan un papel crucial en la activación de las células fagocíticas. Una respuesta disminuida al LPS puede contribuir, al menos parcialmente, a la alta tasa de mortalidad en la enfermedad séptica y la cirugía mayor (Majetschak 1999, Ziegefuss 1999, Astiz 1996, Ertel 1995).

Mientras que es comúnmente aceptado que la inmunosupresión se asocia a altas tasas de morbilidad y mortalidad en el caso de los politraumatismos, grandes quemados, shock hemorrágico y sepsis (Angele 2005), no están tan extendidas las consecuencias de la inmunosupresión en la cirugía mayor.

El desequilibrio de las citoquinas da lugar a complicaciones postoperatorias (Tschoeke 2007), así por ejemplo, los niveles altos de IL-10 se correlacionan de forma significativa con las complicaciones del postoperatorio de intervenciones como el bypass cardiopulmonar (Tabardel 1996), sepsis y fallo multiorgánico en niños (Doughty 1998), y adultos (Steinhauser 1999).

En un trabajo de Mokart y colaboradores de 2002, el aumento de IL-6 tras cirugía en pacientes de cáncer está asociado a la aparición de morbilidad séptica, concluyen que la elevación de la concentración de receptores IL1- α puede ser predictivo de la aparición de shock séptico postquirúrgico.

Otra de las consecuencias del desequilibrio de las citoquinas es el fallo en la comunicación de las células inmunes, fallo en la función y el comportamiento quimiotáctico de los leucocitos, desactivación de los monocitos, incluyendo la pérdida de la presentación de antígeno, aumento de la permeabilidad microvascular y ausencia regulación de la viabilidad celular, con un incremento de la apoptosis (Tschoeke 2007), fenómenos que pueden desencadenar el síndrome de respuesta inflamatoria sistémico (SIRS), fallo multiorgánico o fracaso multiorgánico (fallo letal).

Por su fuerte correlación con la intensidad del daño traumático, la IL-6 se considera un valioso predictor de las consecuencias de los politraumatismos y la sepsis. (Tschoeke 2007).

La producción de citoquinas difiere según la edad (Desborough 2000). Se ha comprobado que en el anciano hay una mayor liberación de estas sustancias, en relación con el adulto joven frente a una misma intervención quirúrgica (Kudoh 2001). Aunque no hay muchos estudios en la infancia, parece ser que los niveles de citoquinas que se alcanzan en cirugía pediátrica son inferiores a los del adulto, posiblemente debido a una inmadurez del sistema inmunitario. La respuesta de las citoquinas va madurando con la edad (Nakamura 2003). También dentro de la edad pediátrica, se observan diferentes perfiles de liberación de citoquinas en respuesta a la agresión quirúrgica (Alcaraz 2005).

Por el contrario, los niveles séricos de corticoides aumentan de forma mucho más pronunciada en la infancia, respecto de las mismas intervenciones en la edad adulta (Castejón 2001).

Los niveles plasmáticos de ACTH y cortisol aumentan de forma significativa a la hora de la intervención, manteniéndose elevados a la hora 6 postquirúrgica y volviendo a los valores basales a las 24 horas de la intervención (Ramírez 2003). En adultos, el aumento de cortisol debido al estrés que provoca la cirugía es menor, volviendo antes a los valores basales (Ogawa 2000)

La respuesta metabólica que sigue al daño quirúrgico está mediada por estimulación neuroendocrina, con liberación de citoquinas tisulares y proteínas hepáticas de fase aguda (Chrousos 1997). Así, también se liberan factores antiinflamatorios que moderan la respuesta; sería el caso de receptores que captan parte de las citoquinas circulantes, la síntesis por

el hígado de proteínas de fase aguda o el aumento del propio cortisol, que es un potente antiinflamatorio (Choileain. 2006).

La evaluación en el laboratorio de la respuesta inflamatoria puede ser interesante para valorar la agresión que produce el acto quirúrgico. La magnitud del fenómeno inflamatorio como respuesta al estrés quirúrgico es un factor importante para evaluar el trauma que supone una intervención quirúrgica, de especial interés cuando consideramos que el síndrome de respuesta inflamatoria sistémico (SIRS) es la principal causa de morbilidad y mortalidad en las unidades de cuidados intensivos pediátricas (Alcaraz 2005).

La IL-6 es un marcador precoz del daño tisular y puede ser útil en la evaluación del estrés quirúrgico (Elliot 1996), su liberación también se correlaciona con la duración de la cirugía.

Las citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$) y las interleuquinas IL-1 e IL-6, producidas principalmente por las células mononucleares, juegan un papel importante en la respuesta a la patogénesis del estrés quirúrgico (Ono 2001). La producción del $TNF\alpha$ por los monocitos está extremadamente controlada, pero el antígeno de expresión de monocito HLA-DR está suprimido en pacientes sometidos a estrés quirúrgico. Kawasaki y colaboradores (2001) en un estudio realizado en 20 pacientes demostraron que el estrés quirúrgico deprimió rápidamente la expresión del antígeno monocito mCD14 y HLA-DR en comparación con los niveles preanestésicos. Ambas moléculas pertenecen al complejo mayor de histocompatibilidad, por lo que juegan un importante papel en la presentación de antígeno a los linfocitos y en el inicio de la

respuesta inmune adaptativa. Al reducirse los valores de dichas moléculas bajo anestesia general, una consecuencia podría ser el aumento del riesgo de complicaciones postoperatorias, como SIRS, sepsis y fallo orgánico múltiple (Kawasaki 2007, Wakefield 1993).

El estrés quirúrgico da lugar a un amplio rango de respuestas (hormonal, metabólica e inmune) que afectan a la homeostasis del paciente intervenido (Nakamura 2003). Estudios de tres décadas anteriores pusieron ya de manifiesto la repercusión que tiene la cirugía sobre el eje HPA (Mohler 1985, Alberti 1980, Lines 1971) Estos estudios abundan en el caso del adulto, pero encontramos muy poca información en la cirugía pediátrica. Los niveles de glucocorticoides aumentan tras la cirugía de modo similar en niños y en adultos (Castejón. 2001, Bozkurt 2000, Schmeling 1991, Chuang 1990, Anand 1985) sin embargo, dentro de la edad infantil, Ochoa y colaboradores (1988) encontraron diferencias; los recién nacidos presentaron niveles de cortisol significativamente más bajos que los niños mayores tras someterse a cirugía, debido a la inmadurez del sistema neuroendocrino de los neonatos.

Varios autores (Kotani 1996, Glaser 1995, Baigrie 1992, Shenkin 1989) demuestran la participación de las citoquinas en el inicio de la respuesta inflamatoria aguda. La IL-6 es la más representativa de las interleuquinas proinflamatorias; La IL-10 es la más antiinflamatoria (Lally 2000, Edelson 1999, Doughty 1998). Tras la cirugía, ambos tipos de citoquinas tienden a aumentar su expresión para mantener la homeostasis, cuando se desequilibran puede aparecer el síndrome sistémico de respuesta inflamatoria (SIRS) o bien el síndrome de respuesta antiinflamatoria

compensatoria (CARS), en ambos casos, el resultado puede ser un fallo multiorgánico (Bone 1996).

Hay pocos estudios acerca de los cambios perioperatorios de las citoquinas en los niños. Bozcurt (2000), Sweed (1992) y Tsang (1994) encuentran niveles más altos que en adultos. Y sólo encontramos un trabajo en el que se compara el comportamiento de las citoquinas tras cirugía en distintos grupos, dentro de la edad pediátrica. Nakamura y colaboradores (2003) encuentran valores más altos de IL-6 en el grupo de neonatos que en el de preescolares o niños mayores. Sarandakou en 1998 observó que se producía un aumento en los niveles séricos de IL-6 entre el primer y el quinto día de vida (sin intervención quirúrgica), que parece explicarse por el estrés del parto. En ambos casos, hay una liberación insuficiente de cortisol, que regule apropiadamente la liberación de IL-6 (Auphan 1995, Scheinman 1995).

Al relacionar Nakamura el grado de estrés quirúrgico con la liberación de citoquinas, no encuentra relación significativa entre severidad de la intervención y la respuesta inmune.

En adultos, Baigrie y colaboradores (1992) sí que establecen correlación entre el grado de estrés y la liberación de IL-6, concretamente el pico máximo se da entre las 1.5 y 6 horas del fin de la intervención (Kotani 1996, Glaser 1995). Otros autores encuentran los máximos al cabo de 6-24 horas (Jones 1994) 6-12 horas (Nakamura 2003), este último grupo no encuentra diferencias significativas en los valores de IL-10 cuando compara las distintas edades dentro de la infancia. Parece ser que la liberación de IL-10 es menor en niños que en adultos. Concluye que los neonatos, en los primeros días de vida tienen menor capacidad reguladora de su respuesta

inmune, lo que suele acompañarse de una mayor frecuencia de complicaciones como SIRS y CARS.

1.4 Efecto de las citoquinas sobre el eje hipotálamo-hipofiso-adrenal

El hipotálamo es el principal centro coordinador de la función neuroendocrina. (Ono 2001). Durante el proceso inflamatorio que conlleva una agresión como la cirugía, las citoquinas proinflamatorias activan el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (Lykkegaard 2005)

La cirugía va seguida de una fase de respuesta aguda, que incluye una activación del eje hipotálamo-hipofiso-adrenal (HPA) y fiebre, entre otros aspectos (Rivest 2001, Rosenberg 2001) Forma parte de la respuesta a la enfermedad que es un mecanismo adaptativo muy importante.

La activación del eje HPA es esencial en el mantenimiento de la homeostasis tras la intervención quirúrgica (Kashiwabara 2007). El cortisol es requerido para la función inmune, la síntesis de catecolaminas, la síntesis de receptores adrenérgicos y su acción, y el mantenimiento del tono vascular, entre otras funciones (Marik 2003).

El eje HPA es determinante en la respuesta del paciente al estrés quirúrgico, y, concretamente el cortisol juega un papel central en la modulación de los mediadores inflamatorios tras la cirugía (Ridvall 2000).

El cortisol suprime la liberación de citoquinas proinflamatorias, por lo que una de las funciones importantes del eje HPA es la de prevenir la inflamación severa (Kashiwabara 2007).

Algunos estudios demuestran que los niveles postoperatorios de cortisol correlacionan de forma positiva con la severidad de la intervención (Naito 1992, Woiciechowsky 1999, Valladares 2000, Castejón 2001) considerando así al cortisol como un índice del estrés quirúrgico, sin embargo otros autores obtienen resultados contradictorios (Yamaguchi 1998).

Algunas complicaciones postoperatorias parecen deberse a una respuesta inflamatoria descontrolada por sobreproducción de citoquinas proinflamatorias (Sato 2002). El cortisol tiende a reducir dicha respuesta induciendo la liberación de la principal citoquina antiinflamatoria; la IL-10 (Fillinger 2002).

El sistema neuroendocrino promueve la liberación de catecolaminas y corticoides que también van a inducir la liberación de mediadores inflamatorios y antiinflamatorios (Álvarez 2006).

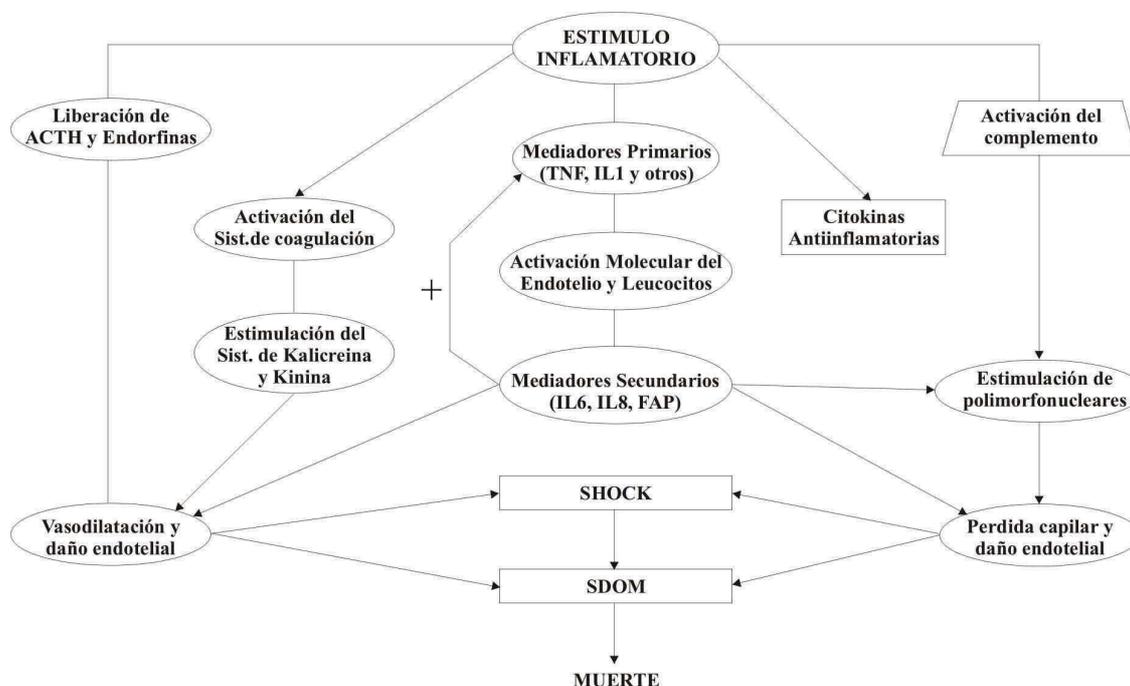


Figura tomada de Álvarez C. Revista Latinoamericana de Tecnología Extracorpórea Volumen XIII, número 2, 2006.

Varias citoquinas, incluyendo la IL-1, TNF e IL-6 tienen influencia en la temperatura y activan el eje HPA. La acción de citoquinas sobre el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal se produce de forma directa, ya que se han encontrado receptores para citoquinas a nivel del sistema nervioso central. Se ha demostrado que hay expresión de citoquinas por los tejidos del eje HPA (Besedovsky 1996), y también se ha encontrado respuesta del sistema nervioso central a las citoquinas (Fillinger 2002, Tassani 2000), concretamente aumentando la secreción de ACTH desde la hipófisis, por actuación directa de interleukina 1 sobre hipocampo y otras áreas.

Las citoquinas más activas en la respuesta metabólica se afectan directamente por el cortisol y las catecolaminas. La primera citoquina que se produce es el TNF α , éste estimula la liberación de IL-1 e IL-6; TNF α e IL-1 se estimulan entre si y a la vez estimulan a la IL-6. La IL-6 inhibe la producción de TNF α e IL-1. El cortisol inhibe la liberación de estas tres citoquinass pero actúa de forma sinérgica con la IL-6 en la síntesis de proteínas de fase aguda por las células hepáticas. Las catecolaminas a través de los receptores Beta 2 estimulan a la IL-6, y por medio de ella inhiben a TNF e IL-1 (Álvarez 2006).

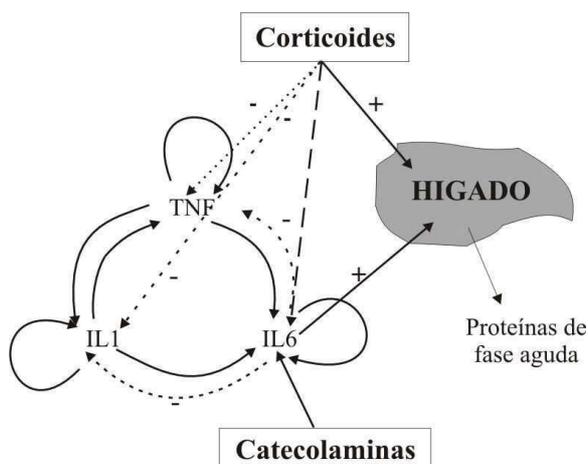


Figura tomada de Álvarez C. Revista Latinoamericana de Tecnología Extracorpórea Volumen XIII, número 2,2006.

La mayoría de las citoquinas aumenta tras cirugía mayor, pero sólo algunas, como la IL-6 aumenta bajo cualquier tipo de cirugía, aunque el estrés quirúrgico que se alcance no sea excesivamente alto. Los niveles plasmáticos elevados de IL-6 en el período siguiente a la intervención se han relacionado con tasas altas de morbilidad y mortalidad (De Jong 2003)

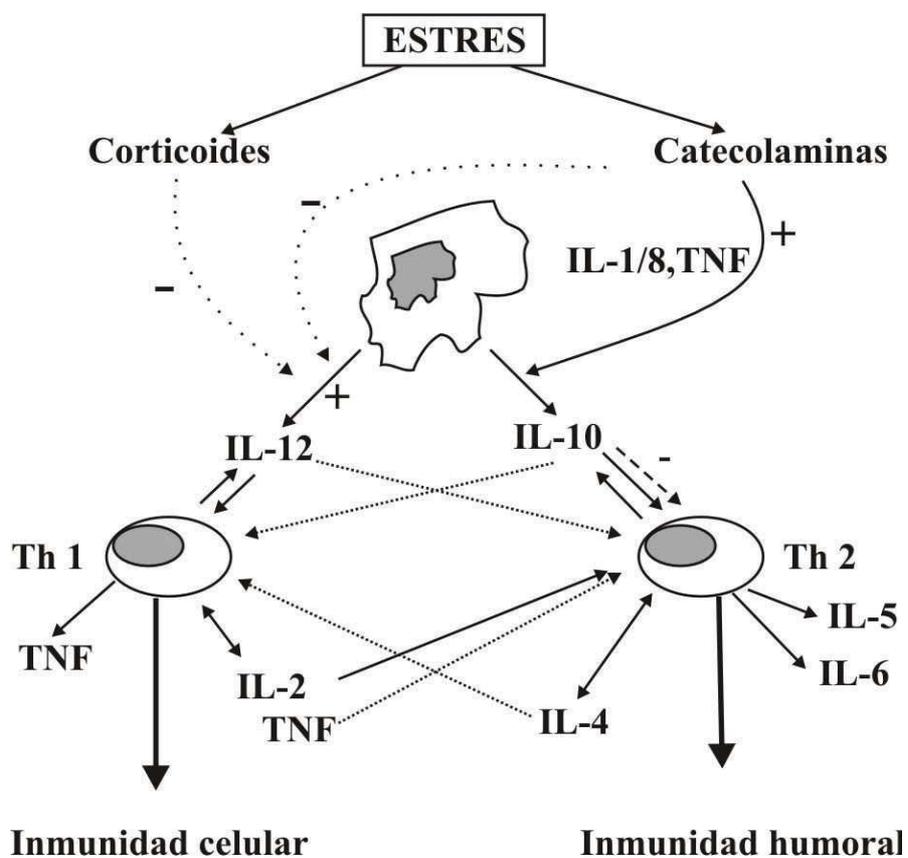


Figura tomada de Álvarez C. Revista Latinoamericana de Tecnología Extracorpórea Volumen XIII, número 2, 2006.

Estudios recientes sugieren que la sepsis severa y el trauma severo pueden estar asociados a la insuficiencia adrenal, que puede contribuir al desenlace fatal (Kashiwabara 2007, Marik 2003, Henzen 2003 y Manglik 2003).

Inmediatamente al acto quirúrgico se produce el fenómeno inflamatorio para movilizar todos los mecanismos de inmunidad, celulares y humorales. Generalmente es un fenómeno exacerbado, que tiende a controlarse también por el propio organismo. Así, también se liberan factores antiinflamatorios que moderan la respuesta. Sería el caso de receptores que captan parte de las citoquinas circulantes, la síntesis por el hígado de proteínas de fase aguda o el aumento del propio cortisol, que es un potente antiinflamatorio (Ramírez 2003).

En algunos estudios se ha comprobado la existencia de receptores específicos para citoquinas como las interleuquinas 1 y 6, que estimulan la liberación de CRH, hormona que activa a la hipófisis, liberando ésta ACTH, que actúa a nivel de la corteza adrenal, aumentando los niveles circulantes de cortisol y catecolaminas (Kashiwabara 2007, Jameson 1997, Dekeiser 2000). El cortisol inhibe la liberación de CRH y ACTH por mecanismos de feedback negativo. Durante el estrés quirúrgico, los pacientes con una función normal del eje HPA muestran elevados niveles de cortisol de forma consistente, sin embargo existe variación interindividual en la respuesta del cortisol al estrés quirúrgico, siendo más importante la liberación de esta hormona cuanto más agresiva es la cirugía, pudiendo llegar a causar una insuficiencia adrenal relativa, que resulta en la hipersecreción de IL-6, proteína C reactiva y la aparición de importantes signos clínicos de SIRS,

directamente relacionados con complicaciones postoperatorias y prolongada hospitalización (Kashiwabara 2007).

Algunos estudios sugieren que la edad está relacionada con diferencias en los niveles basales de cortisol (Beale 2002).

Aunque se relaciona la liberación de IL-10 con los corticoides (Sato 2002, Fillinger 2002), Kashiwabara no encuentra correlación entre la IL-10 y el grado de estrés quirúrgico o la liberación postoperatoria de cortisol.

La administración de corticoides antes de la intervención es efectiva para evitar la excesiva respuesta inflamatoria y prevenir complicaciones en cirugías de alto estrés (Kashiwabara 2007).

Para ver el efecto del estrés quirúrgico severo sobre el eje HPA, Calogero y colaboradores (1992) midieron los niveles plasmáticos de hormona liberadora de corticotropina (CRH), corticotropina (ACTH), cortisol, arginina-vasopresina (AVP), péptido natriurético atrial, neuropéptido Y y las interleuquinas IL-1, IL-6, TNF α e INF γ en ocho pacientes con síndrome de Zollinger-Ellison o con carcinoma de paratiroides sometidos a cirugía mayor, siguiendo la misma pauta anestésica. Concluyen que en intervenciones de alto estrés quirúrgico, los niveles plasmáticos de glucocorticoides aumentan debido a la liberación pulsátil de de CRH y ACTH y por los altos niveles de vasopresina. La secreción de corticotropina en intervenciones de alto estrés se realiza con pulsos muy seguidos, mientras que si la intervención es menos agresiva, los pulsos de ACTH se presentan más espaciados. No se observó una elevación universal de todas las citoquinas durante o tras la intervención, pero sí hubo ascenso de IL-6 mantenido en el tiempo.

En roedores, la administración periférica de IL-1 induce fiebre, activa el eje hipotálamo-hipofiso-adrenal (HPA) y produce cambios en la conducta (Dunn 2001). Los mecanismos por los cuales ocurren estas alteraciones permanecen sin aclarar. Dunn en un estudio posterior (2005) compara la elevación de la temperatura al administrar IL-1 β y solución salina a las ratas. En el primer grupo se produjo un claro incremento de 0,6-0,7°C en la temperatura corporal. La inyección de IL-1 β también aumentó la concentración plasmática de ACTH, alcanzando un pico en la primera hora y un aumento algo más prolongado en el tiempo de corticosterona (1,5-2 horas). El pretratamiento con un inhibidor de la ciclooxigenasa, como la indometazina, evitó la aparición de fiebre y la liberación de noradrenalina (NA) a partir de estímulos hipotalámicos, aunque el incremento de ACTH y corticosterona sólo disminuyó ligeramente.

Los resultados indican una relación entre la liberación de NA, la elevación de la temperatura y la activación del eje HPA, directa en el caso de los dos primeros fenómenos. La activación del eje HPA por la IL-1 β debe de producirse por mecanismos redundantes, ya que la administración del AINE produce una disminución en los niveles de ACTH (Wieczoreck y Dunn 2005).

Estos mismos autores proponen que la IL-1 β puede actuar directamente sobre la lámina terminal del órgano vascular de la eminencia media (OVLT) provocando activación del eje HPA por un mecanismo que implica a la ciclooxigenasa, ya que al administrar indometazina directamente sobre la OVLT se evitó la activación del eje. La respuesta de la noradrenalina no parece ser esencial en la activación del eje HPA, aunque su ausencia reduce la activación. Este estudio indica que hay múltiples mecanismos

redundantes por los cuales la IL-1 β afecta varias respuestas del sistema nervioso.

Bethin en el año 2000 relaciona la activación del eje HPA con los niveles plasmáticos de CRH e IL-6. Se distinguen dos fases en la activación del HPA (Naito 1992); la fase inmediata que sigue a la agresión, donde se produce un aumento de CRH, cortisol y de hormona del crecimiento, (Moore y Desborough 1994) y una fase posterior, en la que aumenta la IL-6. El uso de anestesia epidural en cesáreas redujo el incremento de ACTH y cortisol plasmáticos, sin embargo no produjo ningún efecto sobre la liberación de IL-6 (Bethin 2000). Otros autores encuentran la misma reducción de la liberación de cortisol tras el empleo de anestesia epidural frente a la anestesia inhalatoria, sin embargo no encuentran el mismo comportamiento para la ACTH. (López García, 2001). No encontraron diferencias significativas entre los dos tipos de anestesia, en lo referente a la liberación de ACTH. Existe una relación evidente entre el comportamiento de los niveles plasmáticos de cortisol y ACTH, ambas hormonas se consideran clásicamente hormonas de estrés. Al encontrar valores plasmáticos de cortisol mayores en el grupo de anestesia inhalatoria frente a los encontrados en el grupo epidural, concluyen que el estrés asociado a la anestesia epidural es menor que el que se alcanza con anestesia convencional inhalatoria.

De Jongh y colaboradores (2003) demuestran con el uso de anticuerpos antiIL-6 que pueden influenciar la homeostasis térmica, no así la activación del eje HPA, tanto en estrés psicológico como quirúrgico. No está claro

cómo la IL-6 alcanza el centro termorregulador para inducir la fiebre, es posible que atraviese la barrera hematoencefálica.

El uso de anestesia epidural en cesáreas redujo el incremento de ACTH y cortisol plasmáticos, sin embargo no produjo ningún efecto sobre la liberación de IL-6.

1.5 Liberación de citoquinas y dolor postquirúrgico

El estudio del dolor postquirúrgico se ha relacionado también con las alteraciones tisulares generadas por la agresión quirúrgica, que desencadenan la liberación de citoquinas, responsables de los procesos inflamatorios locales postquirúrgicos. Los estudios que relacionan citoquinas y dolor postoperatorio no son tan frecuentes como los que demuestran la relación directa entre este dolor y las hormonas del estrés comentadas anteriormente (Castejón 2001), y nuevamente, encontramos escasas referencias en el paciente pediátrico.

Cuando se destruye un tejido se liberan numerosos mediadores de la inflamación en el lugar de la herida. Dichos mediadores contribuyen de forma importante a la lucha del organismo contra infecciones y a la restauración del tejido, pero además también dan lugar a la aparición de dolor, mediante la activación de las aferencias primarias nociceptivas (Julius y Basbaum 2001).

Claramente los mecanismos centrales del dolor son predominantes (Sandkühler y Ruscheweyh 2004). El dolor se produce como consecuencia de la estimulación de nociceptores y receptores de bajo umbral, situados en la zona de la intervención quirúrgica. La estimulación de estos receptores, mediante el arco reflejo correspondiente, generará la percepción dolorosa del estímulo.

Pero también está demostrado que la sensibilización central se produce como consecuencia de la sensibilización periférica relacionada, por ejemplo, con la inflamación tisular (Beilin 2003). Es posible que la liberación de factores tisulares actúe produciendo la sensibilización de nociceptores y la sensibilización central, como consecuencia de la llegada masiva de información nociceptiva aferente a la médula espinal (Moreno 2000). Este efecto sumado al de la estimulación por la propia cirugía, sería responsable de la plasticidad central asociada al dolor postquirúrgico y al dolor persistente en general (Cervero 1996) Durante la inflamación, se producen mediadores hiperalgésicos desde las células propias del lugar de la agresión, así como desde células inmunes que invaden la zona inflamada. Estos mediadores pueden ser citoquinas, quimioquinas, factores de crecimiento nervioso, prostaglandinas, ATP... Incluso se producen mediadores del dolor en la propia destrucción celular, es el caso de los hidrogeniones, o pueden formarse en la circulación, como las quininas. Asimismo se producen mediadores analgésicos en el tejido inflamado, que contrarrestan el dolor, tales mediadores son péptidos opioides, somatostatina, endocannabinoides y citoquinas antiinflamatorias (Rittner y Stein, 2005).

Diferentes mediadores inflamatorios producen dolor como el clásico signo de inflamación; se trata de bradiquinina, sustancia P, prostaglandinas, adenosina, ATP y aminas simpaticomiméticas como la noradrenalina. Estos mediadores pueden estimular directa o indirectamente los nociceptores. De forma directa los estimulan bradiquinina, serotonina, aminoácidos excitadores y los protones. Y lo hacen de forma indirecta las prostaglandinas, la serotonina (ambos mecanismos), noradrenalina, adenosina, óxido nítrico, NGF y las citoquinas (Rittner y Stein, 2005).

Las citoquinas se producen en el lugar de la inflamación y en tejidos linfoides. Son sustancias algógenas. IL-1 β , IL-1 α , TNF α e IL-6 producen dolor cuando se inyectan por vía subcutánea en animales, en ausencia de fenómeno inflamatorio previo. Sin embargo estos efectos no son directos: las IL-1 β e IL-6 estimulan la producción de prostaglandinas mientras que el TNF α ejerce hiperalgesia por la liberación de prostaglandinas y aminas simpaticomiméticas (Cunha y Ferreira 2003). Dina y colaboradores (2003) demostraron que para que las aminas simpaticomiméticas ejerzan este efecto hiperalgésico es necesario que la estructura celular esté intacta, no así en el caso de la hiperalgesia inducida por las prostaglandinas. La IL-1 β , además de actuar a través de la liberación de prostaglandinas, también estimula la secreción de NGF por los mastocitos, ejerciendo efectos hiperalgésicos mediados por el leucotrieno B4 (Sachs 2002).

Hay estudios que demuestran que estas citoquinas inducen hiperalgesia no sólo en la inflamación aguda, sino que puede prolongarse durante 30 días con la administración repetitiva de IL-1 β durante 6 días; también están implicadas en la inflamación crónica (Sachs 2002).

La IL-6 y la IL-8 pueden producir hiperalgesia de larga duración (Kuo 2006). La IL-6 en concreto, induce sensibilización periférica y del sistema nervioso central, dando lugar a la hiperalgesia. Se ha demostrado que el sistema nervioso simpático puede dar lugar al aumento de la IL-6 y que las neuronas simpáticas responden a esta citoquina de forma autocrina o paracrina (Marz 1998). Kuo y colaboradores encuentran valores más bajos de IL-6 en los pacientes en los que mejor se controló el dolor en el período postoperatorio (Kuo 2006)

Algunas citoquinas (IL-1 β y TNF α) producen hiperalgesia a través de estímulos térmicos. Liberan el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) de las aferencias primarias tras activación de los nociceptores y sensibilización *in vitro* por calor.

IL-1 β y TNF α son capaces de aumentar sustancialmente la liberación de CGRP, indicando así un efecto sensibilizador indirecto de las citokinas en la hiperalgesia inducida por calor (Opre y Kress 2000).

Las quimioquinas, factores quimiotácticos liberados en el lugar de la agresión para atraer elementos celulares hacia la zona de la inflamación, también parecen estar implicadas en estos fenómenos hiperalgésicos. Se han encontrado receptores de diversas quimioquinas (CXCR4 y CCR4) en las neuronas ganglionares de la raíz dorsal. Sus correspondientes ligandos inducen un flujo de calcio cuando interaccionan con el receptor, el resultado es el aumento de la percepción dolorosa.

La inyección directa de quimioquinas como la CCL5, CXCL12 y CCL22 (implicadas en la migración leucocitaria) induce dolor en animales. Las

quimioquinas CXCL8 humana y la CXCL1 de rata causan hiperalgnesia de forma indirecta, a través de la liberación de aminas simpaticomiméticas cuando se administran subcutáneamente. (Cunha y Ferreira 2003).

Pero no sólo se producen mediadores hiperalgésicos en el lugar de la agresión quirúrgica, también aparecen algunos mediadores analgésicos endógenos. Los que mejor se conocen y han sido probados clínicamente son los péptidos opioides, otros menos conocidos son los endocannabinoides, el factor inhibidor de la liberación de somatotropina (SRIF) y algunas citoquinas antiinflamatorias.

En los estadios posteriores del fenómeno inflamatorio se producen citoquinas antiinflamatorias, que limitan la inflamación y contrarrestan la hiperalgnesia. Citoquinas como la IL-4, IL-10, IL-13 y el IL-1ra pueden producir analgesia por inhibición de las citoquinas proinflamatorias, como el TNF α , la IL-1 β , IL-6 y la quimioquina CXCL8 (Cunha y Ferreira 2003). Las acciones analgésicas de IL-4, IL-10 e IL-13 pueden ser independientes de la producción de opiáceos endógenos (Vale 2003).

Los efectos analgésicos de las citoquinas han sido demostrados en diferentes modelos de dolor inflamatorio inducido por la inyección intraplantar de carragenatos, TNF α , bradiquinina o induciendo peritonitis (Smith 2003).

La interleuquina IL-1 β puede ser sintetizada en el cerebro, además de los monocitos activados de la circulación sistémica. Se han encontrado sitios de unión para dicha citoquina ampliamente repartidos por todo el cerebro de los animales de experimentación (Mousa 2003). La IL-1 β cerebral está implicada en la modulación del proceso nociceptivo. Cuando se inyecta dentro de los ventrículos cerebrales produce una profunda sensación de

hiperalgesia. A nivel de la médula espinal, la administración intratecal de IL-1 β da lugar a efectos hiperalgésicos en el test de la alodinia mecánica de las ratas. También su administración intracisternal produce efectos hiperalgésicos (Murata 2006).

En contra de estos estudios que sostienen el papel de la IL-1 β como facilitadora de la transmisión del dolor, otros autores demuestran que esta interleuquina o no tiene efecto a nivel del dolor o en todo caso sus efectos son antinociceptivos (Moalen 2006). En su estudio administraron IL-1 β por vía intratecal a ratas a las que se había inducido dolor por inflamación periférica mediante la administración de carragenatos. Los resultados tras tratar 90 animales condujeron a pensar que la IL-1 β tiene efecto antinociceptivo cuando se aplica el test orofacial. En todo caso, de los resultados comentados se desprende la implicación de la IL-1 β en la modulación del procesamiento de la información nociceptiva. El sentido de los efectos; analgesia o hiperalgesia, sigue siendo controvertido.

Las citoquinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF α pueden modular la transmisión del dolor indirectamente, por la liberación de sustancias neuroactivas como el óxido nítrico (NO), radicales libres, prostaglandinas y aminoácidos excitadores de la microglía y los astrocitos. (Wu 2004, Watkins 2003). Estas sustancias podrían ser la causa de la hiperalgesia debida a las citoquinas proinflamatorias.

El tejido y la inervación que circundan la herida producen una respuesta inflamatoria local, que se acompaña de un ascenso de los niveles de citoquinas proinflamatorias (Watkins 1995). Debido al mecanismo *feed-back* entre nocicepción y citoquinas proinflamatorias, es posible que el

dolor contribuya a aumentar los niveles de citoquinas proinflamatorias, mientras que el aumento de citoquinas antiinflamatorias se produce para mantener el equilibrio homeostático (Wu 2004). Las citoquinas proinflamatorias pueden inducir sensibilización central y periférica dando lugar a hiperalgesia (Watkins 1995).

Dorman y colaboradores encontraron que la clonidina influía en los niveles de IL-6, mediante la atenuación de la actividad adenilciclasa, con reducción del cAMP (Dorman 1997).

La IL-1 puede inducir sensibilización central. Sachs y col. encuentran que la IL-1 β produce una hiperalgesia mecánica persistente como resultado de una liberación endógena de eicosanoides (Sachs 2002), otro mecanismo por el que produce hiperalgesia es la liberación de sustancia P (Perretti 1993) y la regulación de la expresión de los receptores de la COX-2 (Samad 2001).

Otros autores asocian la actividad hiperalgésica de la IL-6 con el aumento del factor de crecimiento nervioso (Safieh-Garabedian 1995), con glutamina o con la óxido nítrico sintasa (Watkins 2001).

El TNF α induce hiperalgesia mediante la actuación de los eicosanoides y mediadores simpaticomiméticos (Sachs 2002). Algunos autores encuentran elevados los niveles de TNF α tras la cirugía (Chachkhiani 2005, Mayers 1998) otros no (Wu 2004, Cunha 2003). En el estudio de Wu los valores de TNF α no cambian en el tiempo, ni hay diferencias entre el grupo al que se administra clonidina y el grupo control. Si embargo, si se mide TNF α en el tejido circundante al área de la lesión sí que se encuentran valores superiores a los del plasma (Wu 2003).

La relación entre estrés quirúrgico y endorfinas en pacientes adultos fue establecida por Guillemin en 1977. Según Cohen, la valoración de las

endorfinas en plasma puede ser importante para el conocimiento del papel que los opioides endógenos tienen en los cambios debidos a la agresión quirúrgica, en la estabilidad cardiovascular, en la percepción del dolor, y en el comportamiento humano (Cohen 1981)

El dolor postoperatorio intenso no tratado puede provocar la disminución de los movimientos respiratorios y la imposibilidad de toser, dando lugar a complicaciones pulmonares postoperatorias. Otras complicaciones postoperatorias que pueden ocurrir son el aumento del riesgo de tromboembolismos y disminución de la motilidad gastrointestinal (Wu 2002).

El estrés quirúrgico y el dolor provocan cambios en el sistema inmune, que contribuyen a complicaciones postoperatorias como sepsis y fallo orgánico múltiple. La farmacología del dolor en el adulto tiene uso limitado en la infancia (Moreno 2000).

Los opiáceos presentan demasiado riesgo de depresión respiratoria, sobretodo a edades muy tempranas.

1.6 Analgesia preventiva, anestesia, dolor postquirúrgico y liberación de citoquinas

En los años 90 del siglo pasado, se realizaron una serie de estudios tratando de aclarar el efecto que la analgesia preventiva tenía sobre el dolor postquirúrgico. Como siempre, los trabajos en modelos animales y en pacientes adultos son mucho más abundantes que en los pacientes pediátricos. Sin embargo, a pesar de esta relativa abundancia, no hay resultados claros sobre el efecto de la analgesia preventiva.

Se entiende por analgesia preventiva el suministro de un tratamiento analgésico antes o durante la intervención quirúrgica, para prevenir o reducir el dolor postquirúrgico (Kissin 2000).

El estrés quirúrgico y la anestesia general deprimen el sistema inmune. Esta depresión puede atribuirse, al menos en parte, a efectos de los opiáceos empleados en la terapéutica del dolor postquirúrgico (Rittner 2005).

Existen estudios que comparan la alteración del sistema inmune que tiene lugar en intervenciones quirúrgicas con analgesia preventiva, respecto de la alteración que se produce cuando se administra el mismo tipo de analgésicos, pero sólo al final de la intervención. Akural y colaboradores (2004) valoraron la afectación del sistema inmune mediante el recuento de leucocitos, NK, respuesta de linfocitos a mitógenos y midiendo la secreción de citoquinas proinflamatorias en sangre periférica.

En ambos tipos de analgesia se encontró un ascenso de la IL-6 al final de la intervención, pero el grupo control presentaba mayor elevación que el grupo con analgesia preventiva. Por el contrario los niveles de IL-1 descendieron significativamente entre el final de la intervención y las 4 horas siguientes, en las pacientes con analgesia preventiva, mientras que en

el grupo control no hubo variación respecto de los niveles basales. La menor producción de citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6) parece ser beneficiosa en relación a la percepción nociceptiva, aunque su importancia clínica aún no ha sido establecida.

Uno de los avances que se contemplan es el empleo de técnicas anestésicas por vía epidural, que da un mejor control en la evolución del dolor (López García 2004).

Algunos de los artículos revisados relacionan las citoquinas con las pautas anestésicas. En un estudio del 2000 se observa que el empleo de anestesia epidural reduce la liberación de los supresores de la respuesta inmune, lo que además evita complicaciones infecciosas. El bloqueo neuronal aferente con una técnica anestésica epidural local inhibe la mayor parte de la respuesta metabólica y endocrina al estrés quirúrgico (Khelet 2000). La anestesia epidural, se asocia con la reducción de complicaciones infecciosas (Volk 2003).

El empleo de lidocaína por vía endovenosa antes de la intervención, unida a su administración epidural durante la cirugía, mejora el control del dolor y reduce la liberación de citoquinas (Kuo 2006). Esta reducción del dolor y de las citoquinas es mayor cuando se administra la lidocaína por vía epidural.

El estrés quirúrgico provoca la secreción endógena de corticoides y catecolaminas, que podemos medir en plasma. El bloqueo simpático inducido por la anestesia epidural reduce la liberación de catecolaminas y cortisol y promueve algunos aspectos de la respuesta inmune, como la citotoxicidad de las células NK en pacientes sometidos a cirugía abdominal (Kawasaki 2007, Tonnesen 1988).

Hole (1984) sugiere que la función de linfocitos y monocitos está deprimida bajo anestesia general, no así en pacientes con anestesia epidural bajo el mismo tipo de cirugía. Igual que Khelet, encuentran que la anestesia epidural evita el ascenso marcado de las concentraciones de cortisol durante la intervención quirúrgica.

Para otros autores, sin embargo, la anestesia epidural no tiene efectos sobre el estrés quirúrgico (Norman 1997). En su estudio no mejoró la respuesta neuroendocrina en pacientes bajo recambio aórtico.

Los efectos del bloqueo simpático sobre el estrés quirúrgico y la respuesta inmune aún no están claros. Kawasaki y colaboradores demuestran en un estudio de 2007 que la inmunosupresión empieza durante la cirugía. No encuentran diferencias significativas entre el empleo de anestesia general y el uso conjunto de anestesia general con epidural. Demostraron que la capacidad fagocítica de los neutrófilos disminuye rápidamente, pero de la misma forma en ambos grupos. La anestesia epidural, para estos autores, es incapaz de prevenir la inmunosupresión que produce el acto quirúrgico.

La anestesia epidural no evitó la hiporrespuesta al LPS que tuvo lugar en pacientes sometidos a gastrectomía, ni la supresión de la expresión de mCD14. (Kawasaki 2007).

A pesar de estos resultados contradictorios entre los distintos autores, lo que sí parece repetirse es la incapacidad de los mecanismos de defensa del paciente en el período perioperatorio.

Los analgésicos también van a afectar al sistema inmune durante el estrés quirúrgico. Algunos estudios relacionan la administración de fentanilo con el eje hipotálamo-hipofiso-adrenal, ya que sus resultados muestran que los opiáceos bloquean la liberación de cortisol y ACTH (Dal 2003). AINEs y

opiáceos inhiben en parte la respuesta metabólica y endocrina, pero en menor grado que la anestesia epidural.

El estrés quirúrgico y la anestesia general deprimen el sistema inmune, y esto se manifiesta en los niveles séricos de citoquinas. La evaluación en el laboratorio de la respuesta inflamatoria tiene gran interés para valorar la agresión que produce el acto quirúrgico. La magnitud del fenómeno inflamatorio como respuesta al estrés quirúrgico es un factor importante para evaluar el trauma que supone una intervención quirúrgica.

La analgesia preventiva puede reducir el dolor de la incisión y el dolor debido a la inflamación (Wu 2004, Holthusen 2002).

La premedicación con clonidina modula los cambios hemodinámicos durante la inducción de la anestesia, y también durante y después de la cirugía, reduce la incidencia de isquemia miocárdica y disminuye los requerimientos de anestésicos volátiles y opioides durante la cirugía (Wu 2004, Howie 1996). La clonidina también mejora el manejo del dolor cuando se combina con opioides (Hildebrand 2003).

La cirugía colorrectal está asociada a los niveles más altos de IL-6, parece ser que se elevan más que en cualquier otra cirugía, y suele asociarse a íleo postoperatorio (Cruickshank 1990).

Kalff y colaboradores demostraron en 2003 que la regulación de las citoquinas proinflamatorias contribuye a la aparición de íleo postoperatorio. Wu y colaboradores demuestran en un estudio de 2004 el efecto de la analgesia preventiva y analgesia controlada por el paciente (en el período postoperatorio) sobre la liberación de citoquinas. En ambos

tipos de analgesia se administró clonidina y se observó la respuesta; dolor postoperatorio y liberación de IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-8 e IL-1ra.

La administración preoperatoria de clonidina redujo el dolor postoperatorio, prolongó el tiempo entre dosis y dosis de analgésico (controlado por el propio paciente) y aceleró la restauración de la función intestinal, sin que aumentaran los efectos colaterales de clonidina y morfina tras cirugía colorrectal.

Estos resultados son consistentes con los encontrados por Eisenach y colaboradores en 1996. La clonidina por vía epidural redujo el incremento de interleuquinas pro y antiinflamatorias tras la cirugía, además de atenuar las alteraciones inmunes (Wu 2004, Beilin 2003).

La administración de clonidina por vía epidural da lugar a un descenso del flujo central y periférico (Kirno 1993). El estudio de Wu y colaboradores 2004 concluye que la administración preventiva de clonidina por vía epidural, junto con una analgesia controlada por el paciente (morfina y ropivacaína) en el postoperatorio, da lugar a la reducción de la intensidad del dolor, disminuye el consumo de opioides, se recupera la función intestinal más rápidamente y disminuye la liberación de citoquinas.

La analgesia preventiva con dextrometorfano (por vía intramuscular), combinada con analgesia epidural controlada por el paciente en el período postoperatorio y con anestesia torácica epidural durante la intervención, reduce el dolor del postoperatorio (Yeh 2005).

El dextrometorfano es un antagonista de los receptores NMDA, combinado con lidocaína al 2% y administrado mediante catéter epidural reduce de forma significativa el dolor del período postoperatorio, retarda la primera demanda de analgésico en la analgesia controlada por el paciente y reduce el consumo de analgésico en los tres días siguientes a la intervención

(Weinbroum 2003). También en este estudio se aceleró la recuperación de la motilidad intestinal (Yeh 2005). La analgesia preventiva con dextrometorfano reduce la cantidad de opioides necesaria para controlar el dolor del postoperatorio, y por tanto, también reduce sus efectos secundarios (Weinbroum 2000).

Tanto el dolor como los opiáceos dan lugar al íleo tras la intervención quirúrgica por reducción de la motilidad intestinal (Yeh 2005).

Es posible que exista sinergismo en la asociación de los antagonistas NMDA y los anestésicos locales (Helmy 2000). El dextrometorfano antagoniza los receptores NMDA, por lo que evita la sensibilización central (Wu 2000) y los anestésicos locales reducen la activación neuronal debida a las fibras C, como consecuencia, disminuye la transmisión nociceptiva de la médula por reducción de la actividad de los receptores NMDA (Nagy y Woolf, 1996). Los anestésicos locales podrían influenciar los receptores a los que se une el dextrometorfano, produciendo sinergismo en la analgesia sobre el dolor somático y visceral a nivel de la médula espinal (Weimbroun 2002).

En otros estudios, la analgesia preventiva combinando ketamina, morfina y bupivacaína, mejoró la analgesia tras intervenciones de cirugía abdominal (Wu 2000) y reposición total de rodilla (Wong 1997), respecto de la analgesia de los grupos control.

Además, Hirota y colaboradores (2000) demostraron la interacción de los anestésicos locales con diversos receptores de opioides en animales de experimentación, concretamente receptores μ , K y δ .

En el estudio de Yeh (2005) los beneficios de la analgesia preventiva se manifestaron sólo en las 24 horas siguientes a la intervención.

Los antagonistas de los canales de calcio se administran por vía intravenosa para el tratamiento del dolor neuropático (Koppert 2004). Los nociceptores insensibles a la presión (mechanoinsensitive nociceptors) son un subgrupo de nociceptores implicados en la aparición y mantenimiento de la hiperalgesia, al parecer son especialmente sensibles a la lidocaína intravenosa (Koppert 2000). Varios estudios muestran los efectos antinociceptivos de los antagonistas del calcio en estados de dolor crónico dominados por hiperalgesia (Baranowsky 1999, Kalso 1998). La administración preoperatoria de lidocaína disminuye el dolor postoperatorio, mientras que su administración posterior a la intervención no mejora la analgesia (Koppert 2000). La lidocaína preoperatoria también reduce el consumo de morfina tras la cirugía (Koppert 2004), este efecto es más patente en las 36 horas siguientes a la intervención. En este estudio, la analgesia preventiva con lidocaína también repercutió en la analgesia controlada por el paciente en el postoperatorio, retrasando la primera administración de morfina.

Este fármaco tiene significativas propiedades antiinflamatorias, ya que disminuye la liberación de citoquinas tanto *in vitro* como *in vivo*, por inhibición de la activación de los neutrófilos (Taniguchi 2000). La lidocaína administrada por vía epidural e infusión endovenosa puede atenuar la producción de IL-6, IL-8 e IL-1ra, reduce el dolor y el consumo de opioides y acelera la restauración de la función intestinal tras cirugía de colon (Kuo 2006). Estos efectos son más patentes cuando la lidocaína se administra por vía epidural, pero en pacientes con contraindicaciones o que presenten dificultad para la inserción epidural, la lidocaína endovenosa puede ser una alternativa para mejorar el dolor postoperatorio.

Algunos inhibidores de la ciclooxigenasa-2, como el rofecoxib, tienen efectos en el manejo del dolor y el fenómeno inflamatorio cuando se administran antes de la intervención (Feng 2008). El rofecoxib disminuye el dolor, la necesidad de administrar morfina, la fiebre y la inflamación en la zona de la lesión. Este último efecto se manifestó en un descenso en los valores de IL-6 y TNF α .

La liberación de citoquinas que tiene lugar durante la cirugía puede prolongar el fenómeno de hiperalgesia (Lu 2004). Si se administran inhibidores de las citoquinas antes de la intervención, se puede modular la sensibilización central y mejorar el manejo del dolor en el período postoperatorio. El empleo de pentoxifilina como analgesia preventiva dio como resultado unos niveles más bajos de IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF α , y dilató el tiempo entre cada administración de analgésico en el postoperatorio (Lu 2004). La cascada de retroalimentación entre nocicepción y citoquinas proinflamatorias hace posible que el dolor contribuya a un aumento en la liberación de estas citoquinas (Page 2003). Si la analgesia preventiva se dirige a mermar la liberación de citoquinas, sin reducirla del todo, se consigue un menor consumo de morfina en el postoperatorio y una recuperación más rápida del tránsito intestinal en intervenciones de cáncer colorrectal (Lu 2004).

También la administración de anestésicos antes de la intervención mejoran el manejo del dolor y la recuperación de la movilidad en la artroplastia de rodilla (Adam 2005). La ketamina, antagonista no competitivo de los receptores NMDA, alivia el dolor al prevenir la hiperalgesia postoperatoria (Stubhaug 1997). Los pacientes que recibieron ketamina antes de la intervención, en el estudio de Adam de 2004, recobraron antes la movilidad de la rodilla que los pacientes del grupo control. A las dosis

administradas, ningún paciente presentó sedación, alucinaciones, pesadillas o diplopía. Sus resultados confirman que la ketamina es útil en la analgesia preventiva multimodal.

Sin embargo, en los estudios encontrados en cirugía pediátrica aparece de nuevo la controversia, Butkovic y colaboradores no encuentran diferencias en los efectos analgésicos de la ketamina, administrada antes o al final de la intervención, incluso si se la compara con placebo. En este ensayo clínico se incluyeron 90 niños de edades comprendidas entre los 4 y los 14 años, sometidos a intervenciones de reparación de hernias, circuncisiones y orquidopexia, que se asignaron aleatoriamente a tres grupos; un grupo con administración de ketamina endovenosa antes de la intervención, otro grupo en el que la ketamina se administró al final de la cirugía y un tercer grupo control en el que se infundió salino antes de la intervención. No encontraron diferencias significativas en la analgesia entre ninguno de los grupos (Butkovic. 2007).

Como vemos, en niños los resultados también son controvertidos, existiendo trabajos de investigación que muestran muy claramente el efecto positivo de la analgesia preventiva eliminando o disminuyendo el dolor postquirúrgico, así como el proceso inflamatorio que conlleva la agresión quirúrgica, mientras que otros estudios ofrecen resultados que destacan la ineficacia de la analgesia preventiva.

Según se desprende de la bibliografía consultada en este capítulo, la analgesia preventiva no sólo tiene efecto sobre la percepción del dolor, sino que también produce una disminución en la liberación de citoquinas (Feng 2008, Kuo 2006, Lu 2004).

Es posible que la liberación de factores tisulares actúe produciendo la sensibilización de nociceptores y la sensibilización central, como consecuencia de la llegada masiva de información nociceptiva aferente a la médula espinal. Este efecto sumado al de la estimulación por la propia cirugía, sería responsable de la plasticidad central asociada al dolor postquirúrgico y al dolor persistente en general (López 2004, Moreno 2000). La sensibilización de receptores periféricos se puede prevenir mediante la utilización de analgesia preventiva, lo que sería uno de los mecanismos responsables de la reducción o desaparición del dolor postquirúrgico.

La influencia clínica del uso de la analgesia preventiva sobre el control del dolor puede determinarse cuando la analgesia postoperatoria se efectúa mediante autodemanda, determinándose su eficacia mediante la determinación del número de dosis demandadas y la valoración del dolor según escalas previamente validadas para su uso en niños. En este sentido, el uso de bombas de analgesia controlada por el paciente (ACP) en niños mayores de 4-5 años se halla ampliamente documentado en la práctica clínica (Moreno 2000, Palacio 1997, Berde 1991). La técnica de analgesia controlada por el paciente con ketorolaco presenta mayor eficiencia en el tratamiento del dolor postoperatorio tras cirugía pediátrica, cuando se la compara con la analgesia convencional pautada. Ambas técnicas son igualmente eficaces para eliminar el dolor, pero la analgesia controlada por el paciente en "bolos a demanda" presentó mayor eficiencia, al requerir menores dosis de analgésico. (Moreno 2000).

2. OBJETIVOS

Atendiendo a lo anterior, se ha desarrollado este estudio de investigación con los objetivos que se especifican a continuación.

2. OBJETIVO GENERAL

Contribución de los estudios de laboratorio al conocimiento de la fisiopatología del acto quirúrgico-pediátrico mediante el estudio de las citoquinas como mediadores inflamatorios de la agresión quirúrgica en el paciente pediátrico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudio de las modificaciones que sufren los vectores endocrinológicos en una población quirúrgico-pediátrica desde el momento preoperatorio hasta las 24 horas de la intervención quirúrgica.

2. Valoración de la influencia que el grado de estrés quirúrgico induce en los valores plasmáticos de las citoquinas IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-2, IL-4 e IL-10.

3. Valoración de la influencia que la intensidad del dolor experimentado por el paciente quirúrgico pediátrico ejerce sobre los valores plasmáticos de los mediadores inflamatorios considerados.

3. PACIENTES Y MÉTODOS

3.1 BASES BIOÉTICAS

En 1983, la Asociación Médica Mundial, en su XXV asamblea definió los principios del Acta de Helsinki, acerca de la normativa ética a considerar en las investigaciones a desarrollar con y sobre seres humanos. Este trabajo se ha realizado siendo fiel a la normativa legal vigente que le compete.

Antes de la puesta en marcha de la fase de recogida de datos en los pacientes seleccionados, el diseño experimental ha sido evaluado y aceptado por la correspondiente Comisión de Investigación y Comité Ético del Hospital Universitario “Virgen de las Nieves”, de Granada, según la normativa vigente.

Tras seleccionar a cada paciente susceptible de ser incluido en nuestro trabajo de investigación, y antes de realizarle cualquier tipo de prueba, se informó a los padres o tutores acerca de los objetivos de la investigación y los procedimientos a seguir en el curso de la misma, y sólo después de obtener el consentimiento, se dio comienzo en cada niño la toma de datos, que siempre tuvo lugar delante de un progenitor.

Como condición básica, la investigación quedó en todo momento supeditada al desarrollo del proceso de diagnóstico y tratamiento clínico del paciente.

3.2 TIPO DE ESTUDIO

Estudio epidemiológico observacional analítico tipo cohorte prospectiva, con comparación interna de grupos expuestos a un factor de riesgo fundamental, estrés quirúrgico, categorizándolo en; bajo estrés quirúrgico < 6 y alto estrés quirúrgico ≥ 6 , según la escala de Oxford (Ward Platt y

col. 1990), considerando un tamaño muestral $n = 54$, atendiendo a los siguientes datos previos:

- error $\alpha = 5\%$
- error $\beta = 20\%$

3.3 SUJETOS Y ÁMBITO DE ESTUDIO

Niños de 3-15 años de edad sometidos a intervención quirúrgica programada, tanto de alto como de bajo estrés quirúrgico, bajo anestesia general, en el Servicio de Cirugía Pediátrica del Centro Materno Infantil del Hospital Universitario “Virgen de las Nieves” de Granada, perteneciente al Servicio Andaluz de Salud, ubicado en la ciudad de Granada y responsable de la asistencia quirúrgico-pediátrica de la provincia de Granada y área sur de la provincia de Jaén, que cumplieran los siguientes criterios de inclusión:

- Desarrollo psicomotor normal.
- No padecimiento de otras patologías concomitantes a la que motiva la intervención quirúrgica.
- Consentimiento informado de padres o tutores.

GRUPOS DE ESTUDIO:

Se establecieron dos grupos de estudio:

- Bajo estrés quirúrgico: puntuación de 0 a 5 en la escala de Oxford.
- Alto estrés quirúrgico: puntuación ≥ 6 en la escala de Oxford.

4. CRONOLOGÍA DE LA OBTENCIÓN DE DATOS

Todos los datos fueron recogidos por un único observador. Así, en relación al momento físico en el tiempo de la intervención, se han realizado las siguientes mediciones:

- Preoperatorio. Con el sujeto consciente, tumbado en su cama, y sin ningún tipo de medicación analgésica o anestésica, se procedió a consignar los datos siguientes :
 - Historia clínica
 - Edad
 - Sexo
 - Diagnóstico
 - Intervención quirúrgica

 - ACTH
 - Cortisol
 - Interleuquina 1 β (IL-1 β)
 - Interleuquina 2 (IL-2)
 - Interleuquina 4 (IL-4)
 - Interleuquina 6 (IL-6)
 - Interleuquina 10 (IL-10)
 - Factor de Necrosis Tumoral (TNF α)

- Intraoperatorio. Con el paciente bajo anestesia inhalatoria convencional, se desarrolló la intervención quirúrgica, al final de la misma y con

ayuda del anestésista, cuantificamos el grado de estrés quirúrgico alcanzado, según escala de OXFORD.

- Postoperatorio (1, 6 y 24 horas post-cirugía).

Con el paciente sometido a una analgesia postoperatoria pautada a base de metamizol magnésico (Nolotil[®]) a dosis de 25 mg/kg de peso/8 horas, se efectuaron las correspondientes extracciones para la determinación de:

- ACTH
- Cortisol
- IL-1 β
- IL-2
- IL-4
- IL-6
- IL-10
- TNF α
- Dolor, que se cuantificó en base a la escala de Hannalah

La escala de Oxford cuantifica la intensidad de la agresión quirúrgica.

Para evaluar el grado de estrés alcanzado en la intervención, al final de la misma se cuantifica una serie de parámetros incluidos en la escala de Oxford modificada. Estos parámetros son los siguientes:

ESCALA DE OXFORD MODIFICADA

<u>CATEGORÍA</u>	<u>MEDICIÓN</u>	<u>ESCALA</u>
1. PÉRDIDA SANGUÍNEA	< 5%	0
	5-9%	1
	10-14%	2
	> 15%	3
2. LUGAR CIRUGÍA	Superficial	0
	Intraabdominal	1
	Intratorácica	2
3. TRAUMA TISULAR	Nulo	0
	Manipulación mínima	1
	Manipulación mayor	2
	Resección menor	3
	Resección mayor	4
4. DURACIÓN CIRUGÍA	0-29 minutos	1
	30-89 minutos	2
	90-179 minutos	3
	> 180 minutos	4
5. HIPOTERMIA	Ninguna	0
	34-35,5	1
	< 34	2
6. INFECCIÓN	Ninguna	0
	Localizada	1
	Generalizada	2

Aplicando esta escala establecemos los dos grupos de estudio;

Bajo estrés quirúrgico \Rightarrow Oxford < 6

Alto estrés quirúrgico \Rightarrow Oxford ≥ 6

Para cuantificar los componentes conductuales y psicológicos del dolor se ha diseñado una serie de tests psicoconductuales, que se basan en la observación, por parte del investigador del comportamiento del niño en el período postoperatorio.

ESCALA DE DOLOR/DISCONFORT

<u>OBSERVACIÓN</u>	<u>CRITERIOS</u>	<u>PUNTUACIÓN</u>
1. PRESIÓN SANGUÍNEA	1.1: \pm 10% de la preoperatoria	0
	1.2: > 20%	1
	1.3: > 30%	2
2. LLANTO	2.1: Sin llanto	0
	2.2: Llorando y responde a cariño	1
	2.3: Llorando y no responde a cariño	2
3. MOVIMIENTO	3.1: Ninguno	0
	3.2: No reposo	1
	3.3: Intenso	2
4 .AGITACIÓN	4.1: Dormido/ en calma	0
	4.2: Medio	1
	4.3: Histérico	2
5. POSTURA	5.1: No postura especial	0
	5.2: Postura antiálgica	1
	5.3: Sujeción de la zona dolorosa	2
6. QUEJAS DE DOLOR APROPIADAS A SU EDAD	6.1: Durmiendo o no dolor	0
	6.2: No puede localizar	1
	6.3: Puede localizar	2

Esta escala, desarrollada por Broadman y Hannallah (Broadman y Hannallah 1988) consiste en un método observacional de valoración del dolor postoperatorio en niños.

En dicha escala de dolor/discomfort, el observador evalúa los cinco aspectos reseñados en la escala previa, durante el periodo postoperatorio.

5. METODOLOGÍA DE LA OBTENCIÓN DE DATOS

5.1. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

En cuanto a las medidas de los vectores endocrinológicos y los mediadores inflamatorios, las extracciones de sangre fueron efectuadas mediante un catéter venoso (tipo Abbocarth, calibres de rango 18 a 22) implantado de modo permanente en la vena mediana basilica de miembro superior o vena safena superficial en pierna, y conectado a un sistema de infusión para sueroterapia.

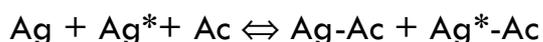
Para las extracciones de sangre, se rechazaron los primeros 5 mL de sangre venosa, una vez obtenidas las muestras fueron transportadas en frascos con hielo, cada una se dividió en 2 tubos siliconados con anticoagulante EDTA (de Becton-Dickinson ®cat. 6456). Inmediatamente tras su recolección, fueron centrifugadas durante 5 minutos a 1000g obteniéndose el plasma, que se distribuyó en tubos de alícuota, y se congelaron inmediatamente a -40°C, de tal modo que en ningún caso el tiempo máximo invertido entre la extracción de sangre del paciente y la congelación del plasma decantado superó los 8 minutos.

Todas las determinaciones analíticas se realizaron en el Laboratorio de Radioinmunoanálisis y pruebas *in vitro* del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario “Virgen de las Nieves” de Granada, por técnicas de radioinmunoanálisis (RIA), análisis inmunoradiométrico (IRMA) y enzimoimmunoensayo (ELISA).

DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS

El radioinmunoanálisis es una técnica analítica competitiva donde un antígeno (Ag) compite con un antígeno marcado (Ag*) para unirse a su anticuerpo específico (Ac), que se encuentra en menor proporción que éstos.

El esquema sería el siguiente:



El trazador que suele emplearse para marcar el antígeno, tanto en RIA como en IRMA es el ^{125}I . Se realiza una curva patrón donde se interpolan los resultados de nuestras muestras.

La curva representa la radiactividad (generalmente en desintegraciones por minuto) frente a la concentración de analito.

La técnica es de tipo competitivo. La actividad será inversamente proporcional a la concentración de antígeno presente en la muestra.

El fundamento del análisis inmunoradiométrico es muy similar. Las diferencias más significativas respecto al RIA son:

En el IRMA el anticuerpo se encuentra en exceso, y generalmente incluye dos anticuerpos distintos; se forma un complejo Ac-Ag*-Ac. El complejo se conoce como "*tipo sandwich*".

El IRMA es de tipo no competitivo; La relación entre actividad y concentración de analito presente en la muestra es directamente proporcional.

La técnica de ELISA consiste en un enzimoimmunoensayo heterogéneo que emplea enzimas como marcadores de antígenos o anticuerpos.

Consta de dos etapas; una primera inmunológica durante la cual tiene lugar la formación del complejo Ag-Ac, y una segunda en la que se determina por fotolorimetría la actividad de la enzima marcada.

Las enzimas que se utilizan como marcadores son; peroxidasa, fosfatasa alcalina, glucosa oxidasa, glucosa 6P-deshidrogenasa y β -galactosidasa, entre otras.

ELISA es un enzimoimmunoensayo heterogéneo que emplea dos soportes sólidos para la separación de las fracciones ligada y libre de las enzimas. Los soportes son placas de microtitulación, bolas de poliestireno y tubos sobre los que se adsorbe anticuerpo.

La técnica de ELISA puede ser competitiva y de tipo *sandwich*. Se pueden emplear anticuerpos mono o policlonales.

Determinación de ACTH. Las determinaciones de ACTH se realizaron mediante técnica IRMA en un equipo semiautomático PACKARD™, con los kits reactivos suministrados por la marca comercial RADIM S.p.A. Vía del Mare, Pomezia, Roma, Italia. Los resultados obtenidos se expresaron en pg/mL.

Características técnicas del equipo IRMA:

- Sensibilidad: 1 pg/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 3,2%
- Coeficiente de variación interensayo: 7,8%

Determinación de cortisol. Las determinaciones de cortisol se realizaron mediante radioinmunoanálisis (RIA), en un equipo automático STRATEC™,

utilizando el equipo de reactivos suministrado por la marca comercial RADIM S.p.A. Vía del Mare, Pomezia, Roma, Italia. Los resultados obtenidos se expresaron en nanogramos/mililitro (ng/mL).

Características técnicas del equipo de RIA:

- Sensibilidad: 0,9 ng/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 4,8%
- Coeficiente de variación interensayo: 7,3%

Determinación de IL-1 β Las determinaciones de IL-1 β se realizaron mediante la técnica de enzimoimmunoensayo (ELISA), en un equipo automático TRITURUS™ Grifols, utilizando los kits de reactivos suministrados por la marca comercial BLK Diagnostics, Les Guixeres, Badalona, España. Los resultados obtenidos se expresaron en picogramos/mililitro (pg/mL).

Características técnicas del equipo ELISA:

- Sensibilidad: 0,32 pg/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 5,1%
- Coeficiente de variación interensayo: 8,6%

Determinación de IL-2 Las determinaciones de IL-2 se realizaron mediante la técnica de enzimoimmunoensayo (ELISA), en un equipo automático TRITURUS™ Grifols, utilizando los kits de reactivos suministrados por la marca comercial BLK Diagnostics, Les Guixeres, Badalona, España. Los resultados obtenidos se expresaron en picogramos/mililitro (pg/mL).

Características técnicas del equipo ELISA:

- Sensibilidad: 9,9 pg/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 5,2%
- Coeficiente de variación interensayo: 8,0%

Determinación de IL-4 Las determinaciones de IL-4 se realizaron mediante la técnica de enzoinmunoensayo (ELISA), en un equipo automático TRITURUS™ Grifols, utilizando los kits de reactivos suministrados por la marca comercial BLK Diagnostics, Les Guixeres, Badalona, España. Los resultados obtenidos se expresaron en picogramos/mililitro (pg/mL).

Características técnicas del equipo ELISA:

- Sensibilidad: 0,32 pg/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 5,1%
- Coeficiente de variación interensayo: 8,6%

Determinación de IL-6 Las determinaciones de IL-6 se realizaron mediante la técnica de análisis inmunorradiométrico (IRMA), en un equipo automático STRATEC™™ , utilizando los kits de reactivos suministrados por la marca comercial Biosource Europe, Rue de l'Industrie, Nivelles, Bélgica . Los resultados obtenidos se expresaron en picogramos/mililitro (pg/mL).

Características técnicas del equipo IRMA:

- Sensibilidad: 6,0 pg/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 4,3%
- Coeficiente de variación interensayo: 6,3%

Determinación de IL-10 Las determinaciones de IL-10 se realizaron mediante la técnica de enzoinmunoensayo (ELISA), en un equipo automático TRITURUS™ Grifols, utilizando los kits de reactivos suministrados por la marca comercial BLK Diagnostics, Les Guixeres, Badalona, España. Los resultados obtenidos se expresaron en picogramos/mililitro (pg/mL).

Características técnicas del equipo ELISA:

- Sensibilidad: 0,99 pg/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 3,2%
- Coeficiente de variación interensayo: 5,6%

Determinación de TNF α Las determinaciones de TNF α se realizaron mediante la técnica de análisis inmunorradiométrico (IRMA), en un equipo automático STRATEC™ , utilizando los kits de reactivos suministrados por la marca comercial Biosource Europe, Rue de l'Industrie, Nivelles, Bélgica . Los resultados obtenidos se expresaron en picogramos/mililitro (pg/mL).

Características técnicas del equipo IRMA:

- Sensibilidad: 5 pg/mL
- Coeficiente de variación intraensayo: 3,1%
- Coeficiente de variación interensayo: 5,7%

5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos mediante la medición de todas las variables se estructuraron en una base de datos formato SPSS edición 15.0, desarrollándose su análisis en las siguientes fases:

Fase 1. Estadística descriptiva de los resultados previa recodificación de las variables pertinentes (edad, sexo y estrés quirúrgico), evaluando en lo que se refiere a las variables, sus medidas de tendencia central y de dispersión o variabilidad, así como (en el caso de variables cuantitativas) su carácter de “normalidad” mediante la aplicación del test de Kolmogorov-Smirnof.

Fase 2. Estadística inferencial.

a. Análisis de la población general de estudio

Se estudiaron las modificaciones de los mediadores inflamatorios y las hormonas de estrés evaluando la presencia o no de diferencias significativas en las medias (o rangos, en su caso) entre los momentos experimentales considerados (preoperatorio, 1, 6 y 24 horas), para observar la influencia de la cirugía sobre los parámetros medidos.

Esto se desarrolló mediante la aplicación del test “anova” para variables normales; con significación “p” $< \alpha$, siendo $\alpha=0.05$. Se determinó el análisis “post-hoc” mediante el test de Fischer o prueba de diferencias mínimamente significativas (DMS) con penalización de Bonferroni.

En el caso de variables no normales, el tratamiento de los datos se hizo mediante pruebas no paramétricas; prueba de Kruskal-Wallis para encontrar variaciones a lo largo del periodo experimental y análisis post-hoc (cuando $p < 0,05$) mediante la prueba de Mann-Whitney.

b. Análisis intragrupal

Con el fin de observar la influencia del estrés quirúrgico sobre los mediadores inflamatorios y las hormonas del estrés, se establecieron dos grupos en función del grado de estrés quirúrgico alcanzado al aplicar la escala de Oxford modificada. En cada grupo (alto y bajo estrés) se evaluó la presencia o ausencia de diferencias significativas a lo largo del periodo de experimentación (test anova/ Kruskal-Wallis) y dentro de los distintos momentos considerados en el análisis “post –hoc” del mismo modo que en el apartado anterior.

c. Análisis intergrupala.

Comparación de los grupos de alto y bajo estrés aplicando los mismos tests estadísticos que en el estudio intragrupal y el estudio de la población general.

LIMITACIONES Y DIFICULTADES DE LA INVESTIGACIÓN

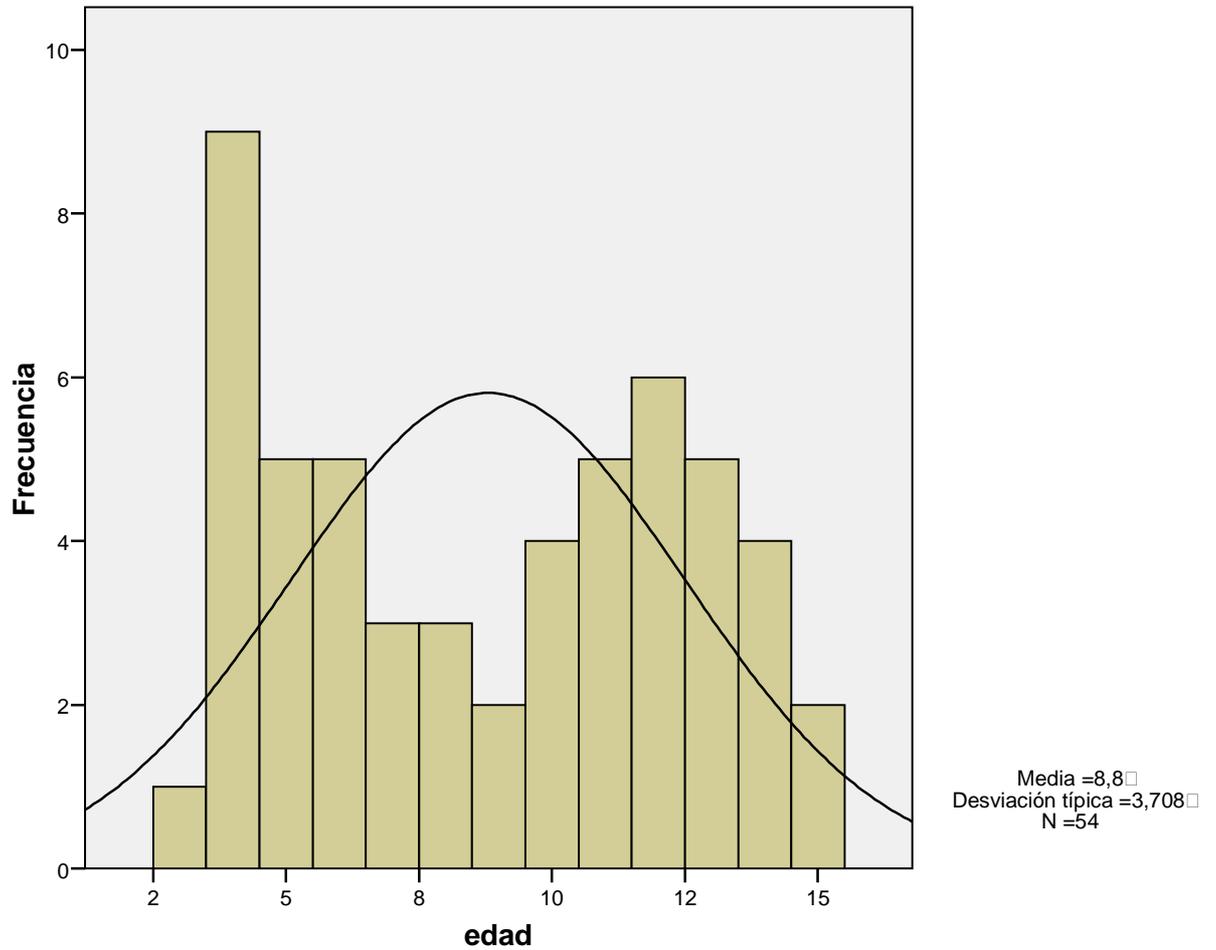
Una primera limitación a tener en cuenta en el desarrollo del presente trabajo es la posible influencia confusora del ritmo circadiano en los resultados de las determinaciones hormonales, este efecto no ha sido evaluado por limitación ética clara, dado que la hora de la intervención, como acto terapéutico básico, no podía supeditarse a los intereses de la investigación. No obstante, la abundante bibliografía respecto a la rotura de este ritmo circadiano que induce la enfermedad aguda o la intervención ha sido comentada en el correspondiente apartado.

También debemos reconocer que la multitud de procesos patológicos susceptibles de tratamiento quirúrgico en la infancia no puede estar representada en una muestra de 54 pacientes, por lo que la extrapolación final de resultados sólo podría efectuarse a grupos poblaciones de patologías similares a las consignadas en la base de datos o, al menos, idénticos niveles de estrés quirúrgico.

6. RESULTADOS

Estudio general poblacional. Estadística descriptiva

Figura1. Edad



La edad media de los pacientes fue de 8,88 años ($\pm 3,70$), con un rango de 3 a 15 años.

Figura 2. Distribución de la población en función del sexo

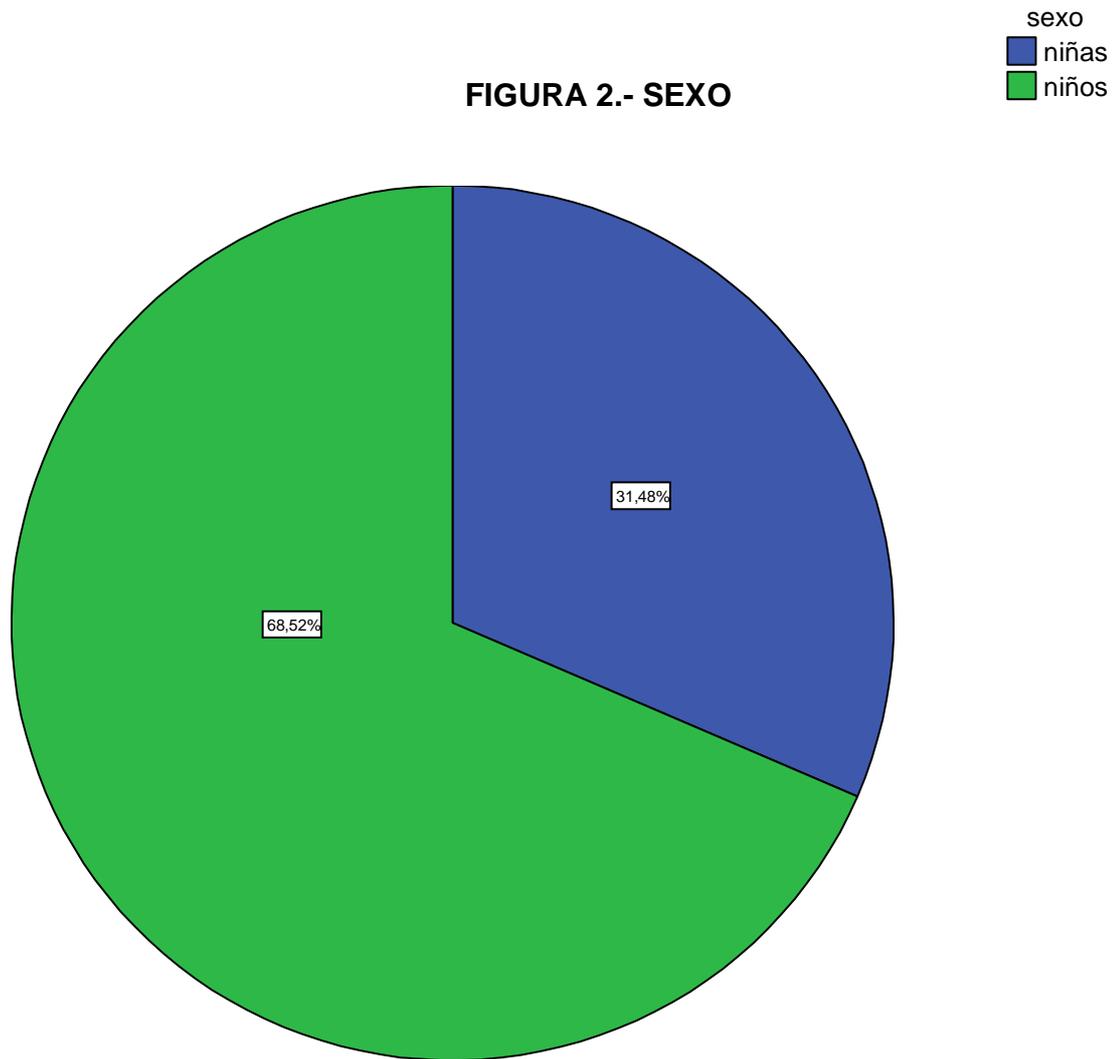
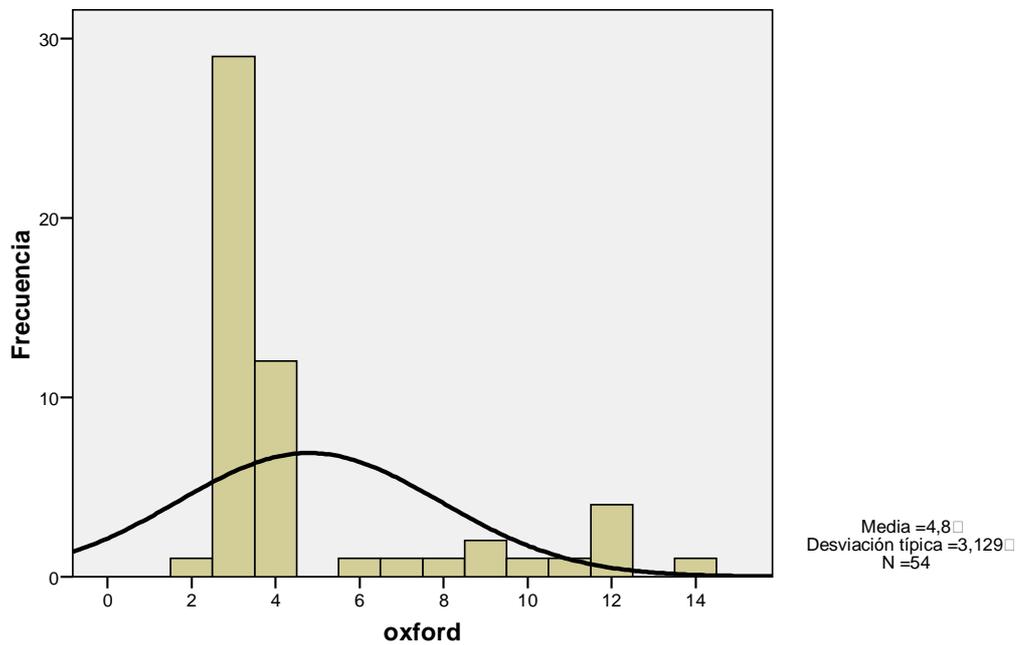


Figura 3.- Distribución de la población en función del grado de estrés quirúrgico en función de la escala de Oxford modificada.



Descriptivos

oxfordredco		Estadístico	Error típ.
	Media	3,26	,077
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior 3,11 Límite superior 3,42	
Bajo (<6)	Media recortada al 5%	3,26	
	Mediana	3,00	
	Varianza	,247	
	Desv. típ.	,497	
	Mínimo	2	
	Máximo	4	
oxford	Media	10,17	,694
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior 8,64 Límite superior 11,70	
Alto (>6)	Media recortada al 5%	10,19	
	Mediana	10,50	
	Varianza	5,788	
	Desv. típ.	2,406	
	Mínimo	6	
	Máximo	14	

Figura 4. Distribución por grado de estrés quirúrgico (alto o bajo, según la escala de Oxford modificada)

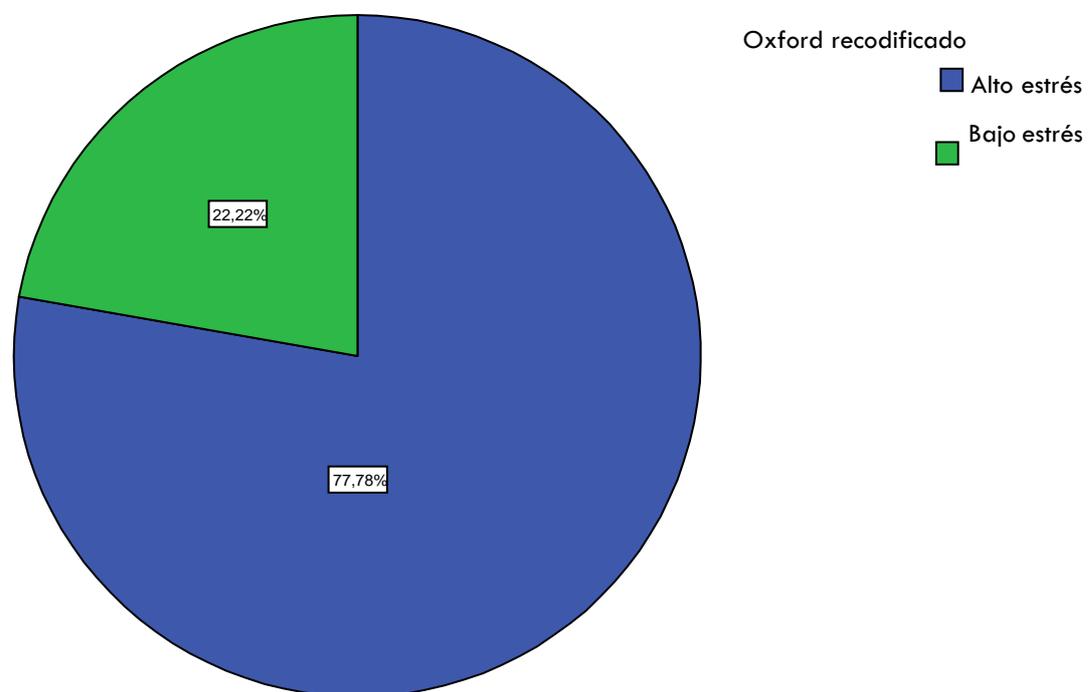
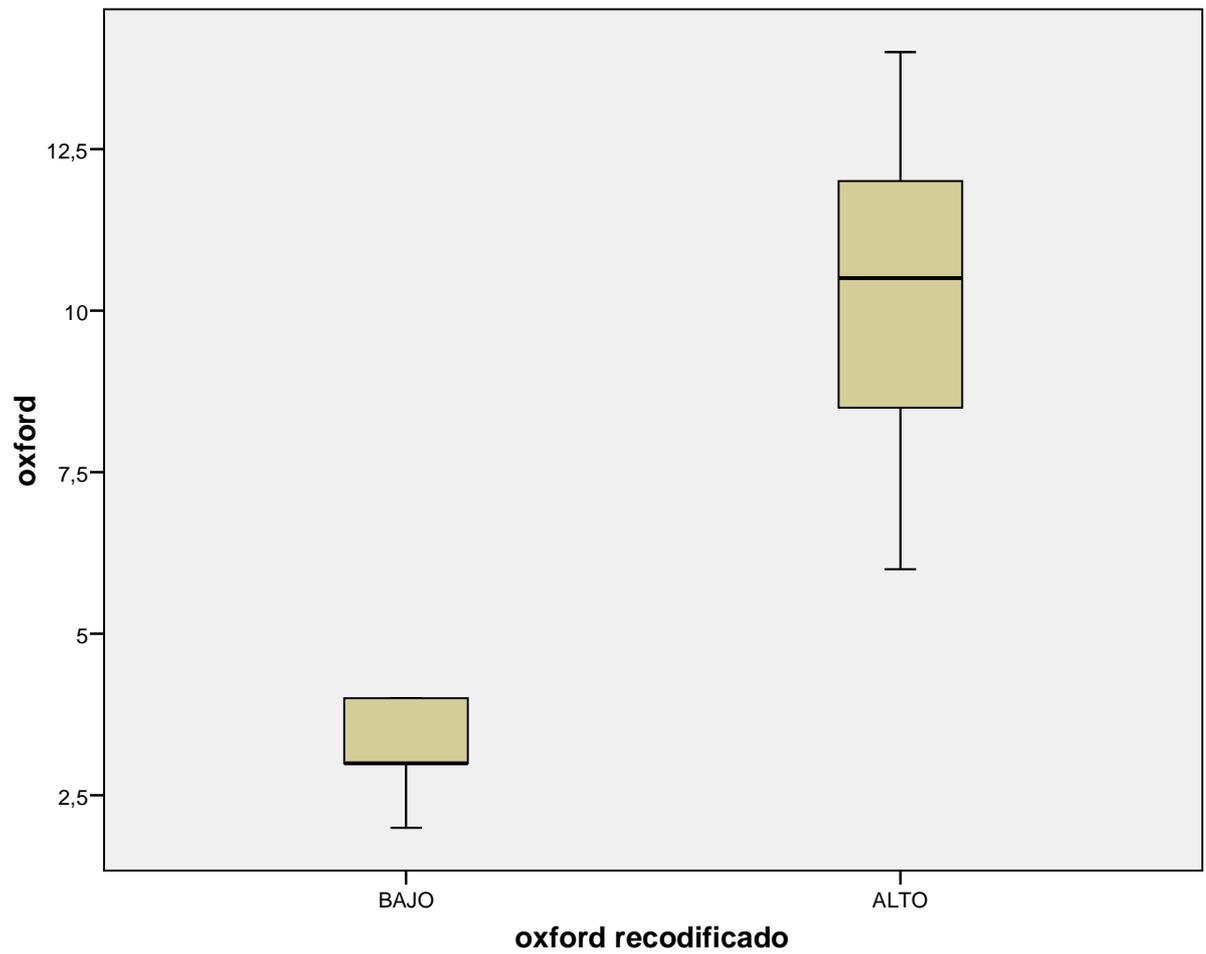
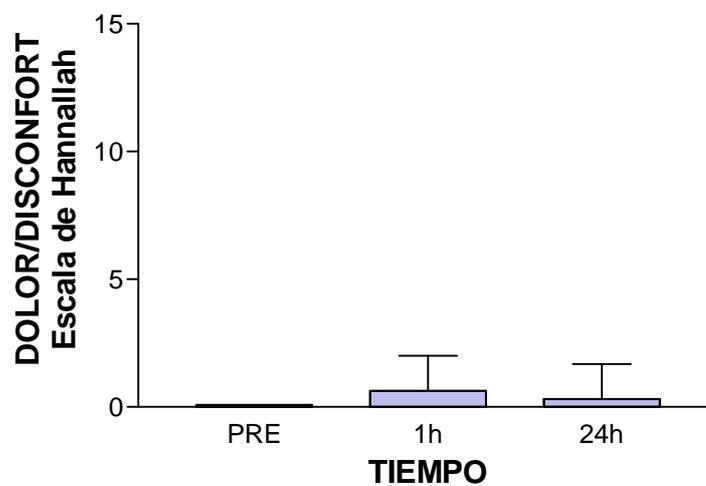


Figura 5. Grupos de pacientes en función del grado de estrés quirúrgico.



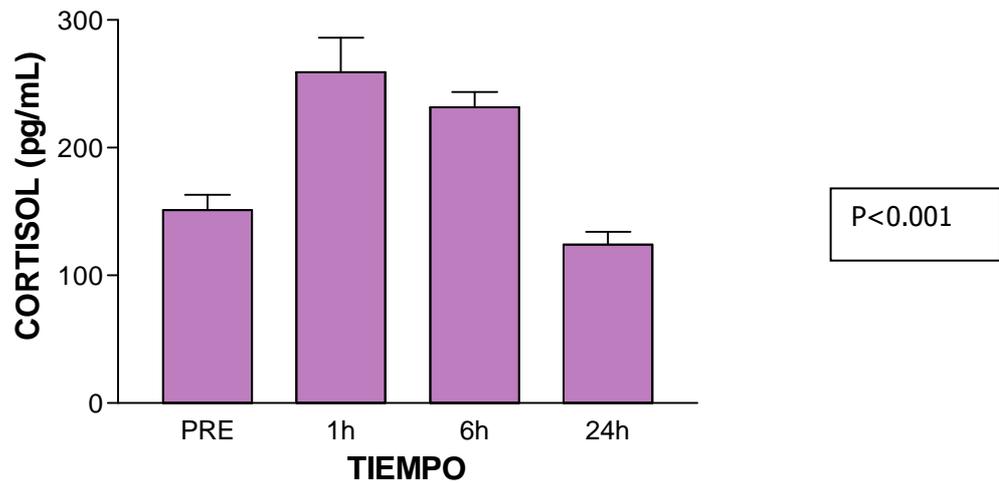
Estadística inferencial

Figura 6. Estudio de la población general en función del grado de dolor/discomfort. Escala de Hannallah.



	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
Hannallah pre	54	0,00	0,00	0,00	0,00
Hannallah 1h	54	0,00	6,00	0,63	1,38
Hannallah 24h	54	0,00	5,00	0,31	1,37
N válido (según lista)	54				

Figura 7. Estudio del cortisol en la población general.

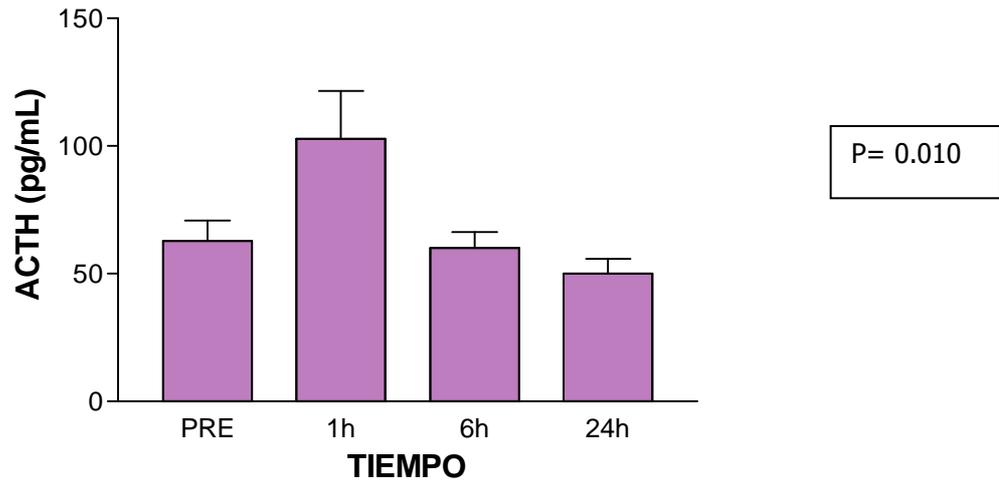


p pre/1h<0,001 pre/6h:0,002 pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h<0,001 6/24h<0,001

Tabla I.- Cortisol

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
Cortisol pre	54	21,38	476,86	151,15	12,51
Cortisol 1h	54	20,94	938,41	259,24	27,78
Cortisol 6h	54	20,72	591,82	231,96	12,51
Cortisol 24h	54	4,42	319,52	124,30	10,46
N válido (según lista)	54				

Figura 8. Estudio de la ACTH en la población general.

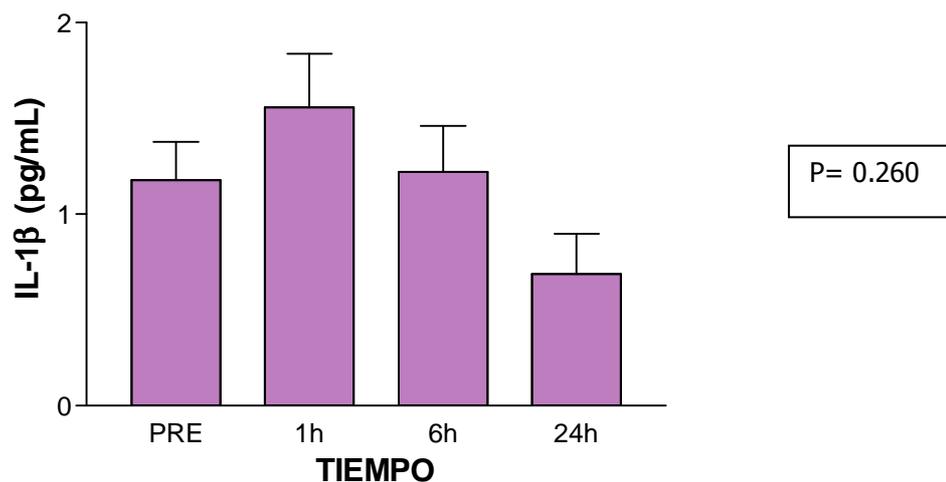


p pre/1h:0,049 pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h:0,043 6/24h:ns

Tabla II.- ACTH

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
ACTH pre	54	0,00	294,28	62,82	8,12
ACTH 1h	54	0,00	287,33	102,90	18,66
ACTH 6h	54	16,07	284,51	60,03	6,25
ACTH 24h	54	3,70	118,36	50,02	5,95
N válido (según lista)	54				

Figura 9. Estudio de la IL-1 β en la población general.

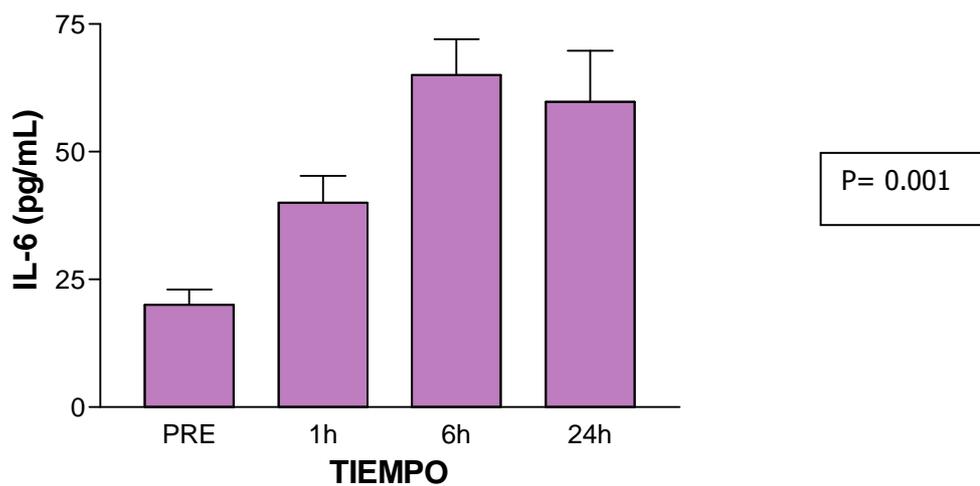


p pre/1h:ns pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h:ns 6/24h:ns

Tabla III. IL-1

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-1 pre	54	0,31	3,33	1,18	0,20
IL-1 1h	54	0,12	4,35	1,56	0,28
IL-1 6h	54	0,36	3,62	1,22	0,24
IL-1 24h	54	0,00	3,19	0,69	0,21
N válido (según lista)	54				

Figura 10. Estudio de la IL-6 en la población general.

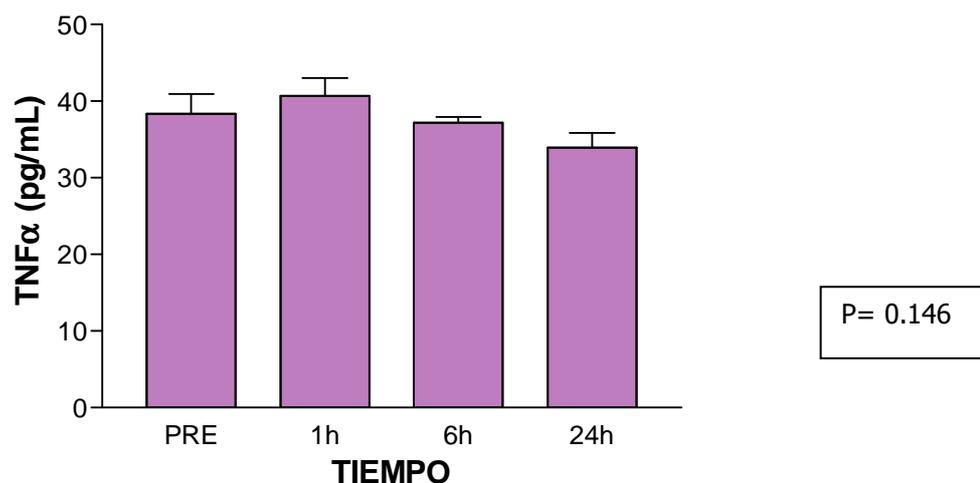


p pre/1h:0,001 pre/6h<0,001 pre/24h<0,001 1/6h:ns 1/24h:ns 6/24h:ns

Tabla IV.- IL-6

	N	Mínimo	Máximo	Media	
				Estadístico	Error típico
IL-6 pre	54	0,00	97,48	20,01	3,01
IL-6 1h	54	0,00	176,82	40,07	5,39
IL-6 6h	54	0,00	264,68	65,10	6,96
IL-6 24h	54	0,00	224,70	59,77	10,01
N válido (según lista)	54				

Figura 11. Estudio del TNF α en la población general.

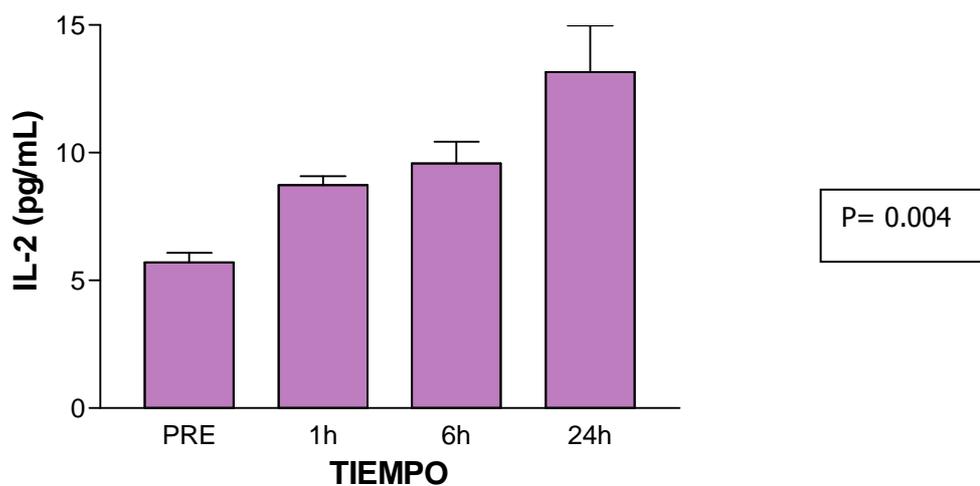


p pre/1h:ns pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h:ns 6/24h:ns

Tabla V.- TNF

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
TNF pre	54	8,63	88,83	38,41	2,56
TNF 1h	54	9,00	82,60	40,73	2,34
TNF 6h	54	7,88	52,60	37,17	0,78
TNF 24h	54	9,58	69,64	33,93	1,96
N válido (según lista)	54				

Figura 12. Estudio de la IL-2 en la población general.



p pre/1h<0,001 pre/6h:0,010 pre/24h<0,001 1/6h:ns 1/24h:ns 6/24h:ns

Tabla VI.- IL-2

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-2 pre	54	0,00	18,80	5,7116	0,39415
IL-2 1h	54	0,00	18,80	8,7495	0,36894
IL-2 6h	54	0,00	49,30	9,5921	0,86649
IL-2 24h	54	0,31	93,30	13,1625	1,82009
N válido (según lista)	54				

Figura 13. Estudio de la IL-4 en la población general.

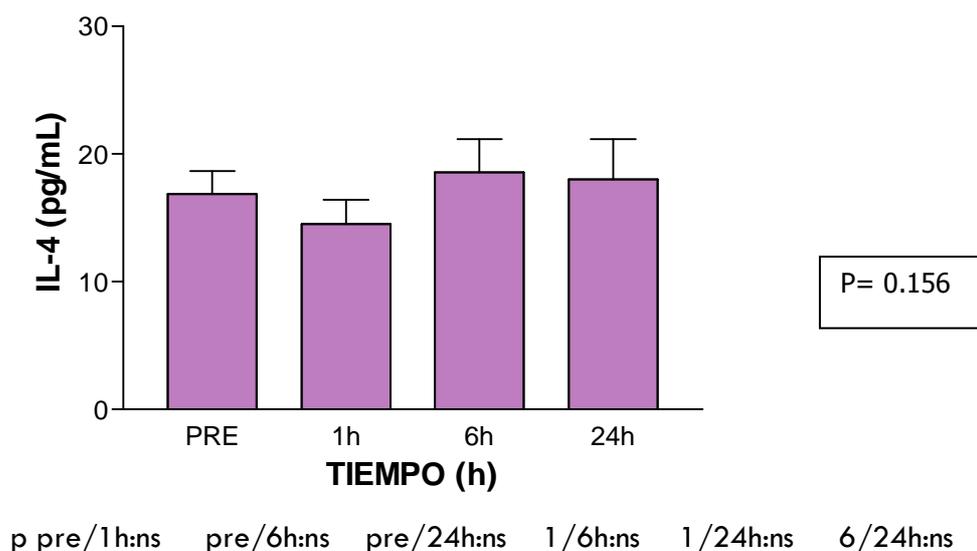
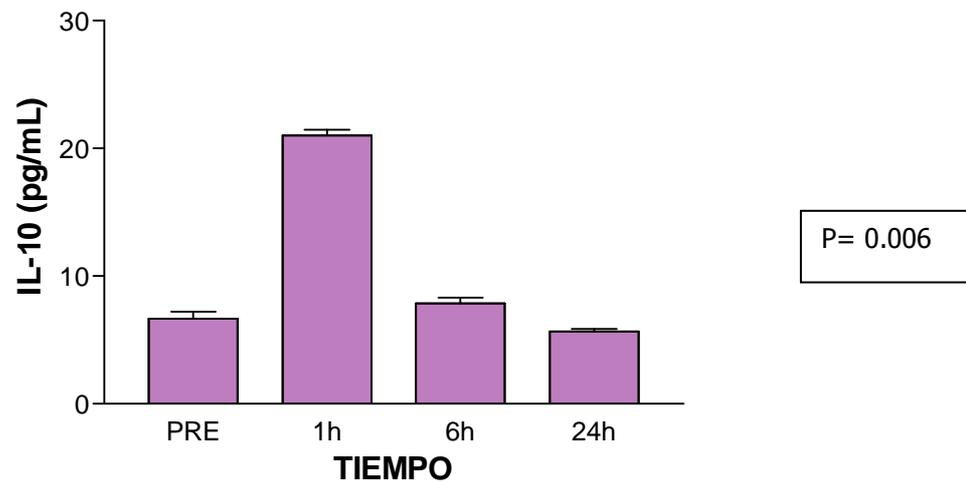


Tabla VII.- IL-4

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-4 pre	54	0,00	83,50	16,86	1,82
IL-4 1h	54	0,00	77,00	14,53	1,90
IL-4 6h	54	0,00	108,00	18,57	2,60
IL-4 24h	54	0,00	171,00	18,05	3,14
N válido (según lista)	54				

Figura 14. Estudio de la IL-10 en la población general.



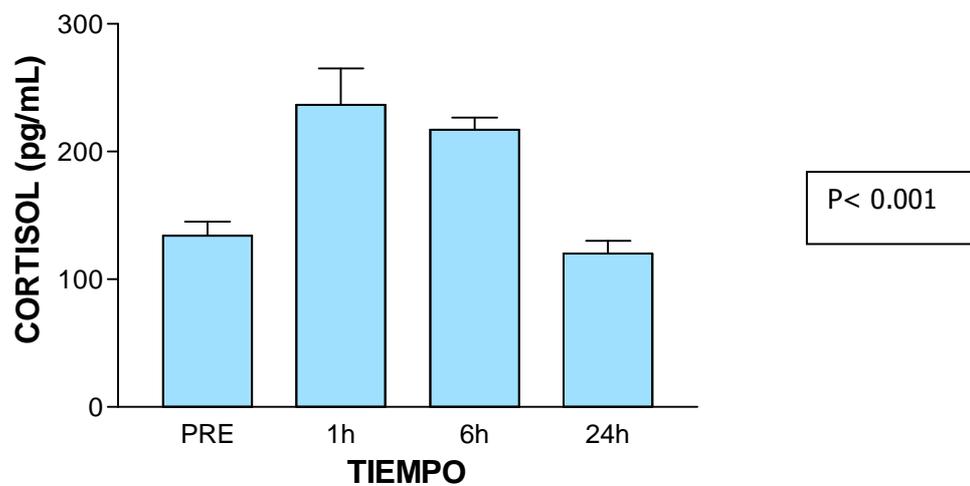
p pre/1h<0,001 pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h<0,001 1/24h:0,004 6/24h:ns

Tabla VIII.- IL-10

	N Estadístico	Mínimo Estadístico	Máximo Estadístico	Media	
				Estadístico	Error típico
IL-10 pre	54	1,14	32,10	6,69	0,52
IL-10 1h	54	0,69	198,00	21,01	3,51
IL-10 6h	54	1,14	21,20	7,86	0,46
IL-10 24h	54	1,30	11,30	5,70	0,19
N válido (según lista)	54				

RESULTADOS BAJO ESTRÉS

Figura 15. Estudio del cortisol en el grupo de bajo estrés.

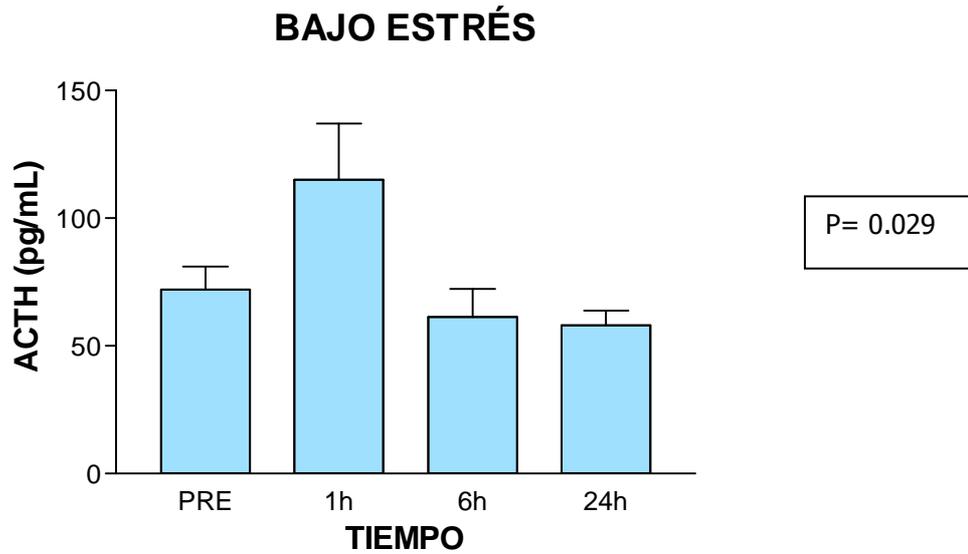


p pre/1h<0,001 pre/6h<0,001 pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h<0,001 6/24h<0,001

Tabla IX.- Cortisol grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
Cortisol pre	42	21,38	327,61	134,92	11,53
Cortisol 1h	42	20,94	638,41	236,80	28,27
Cortisol 6h	42	44,45	369,07	217,16	9,44
Cortisol 24h	42	4,42	319,52	125,80	9,95
N válido (según lista)	42				

Figura 16. Estudio de la ACTH en el grupo de bajo estrés.

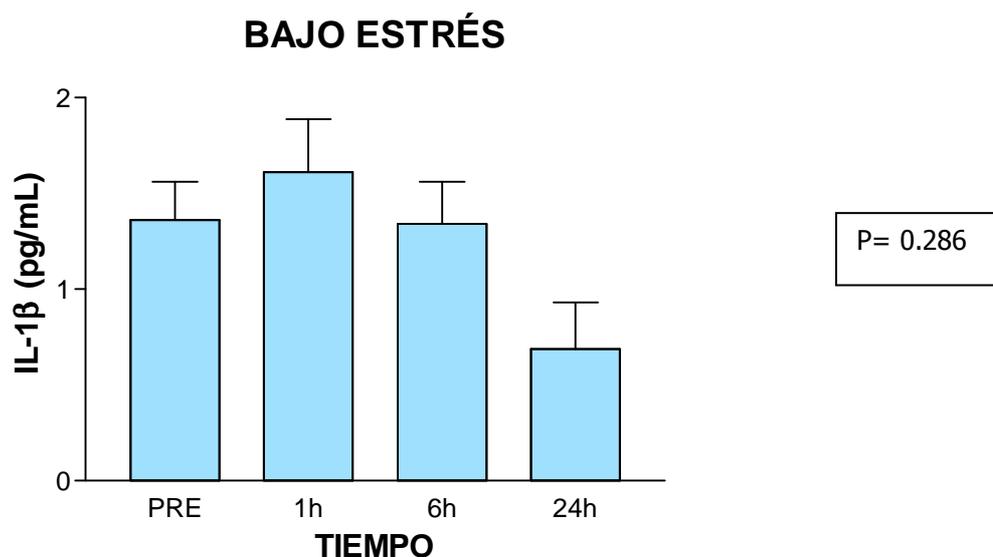


p pre/1h:0,037 pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h:0,052 1/24h:0,049 6/24h:ns

Tabla X.- ACTH grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
ACTH pre	42	5,57	294,28	72,07	9,77
ACTH 1h	42	0,00	387,33	115,89	22,92
ACTH 6h	42	16,07	258,37	61,35	11,01
ACTH 24h	42	3,70	118,36	57,14	5,93
N válido (según lista)	42				

Figura 17.- Estudio de la IL-1 en el grupo bajo estrés.

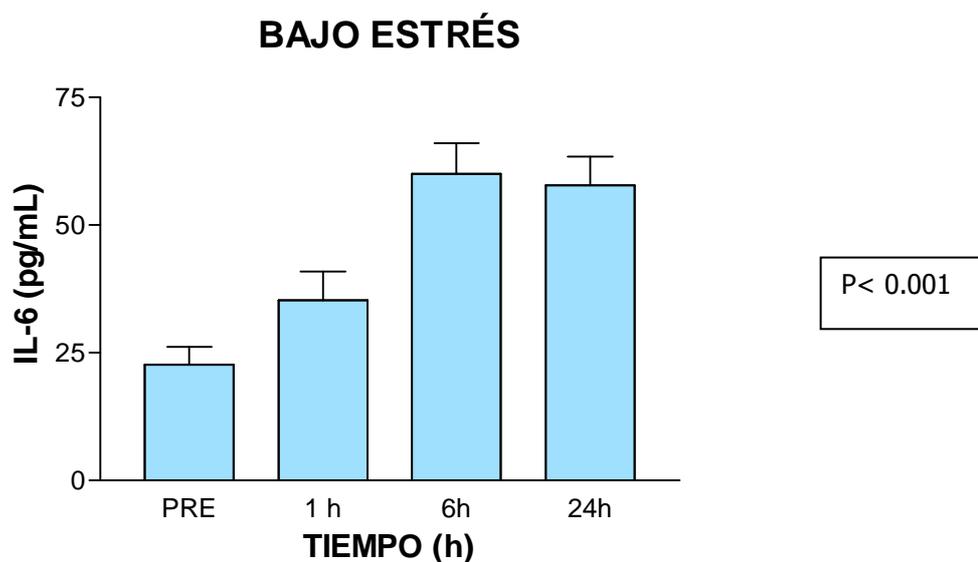


p pre/1h:ns pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h:ns 6/24h:ns

Tabla XI.- IL-1 grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-1 pre	42	0,00	3,33	1,36	0,24
IL-1 1h	42	0,12	4,35	1,61	0,28
IL-1 6h	42	0,00	3,62	1,34	0,22
IL-1 24h	42	0,00	3,19	0,69	0,24
N válido (según lista)	42				

Figura 18. Estudio de la IL-6 en el grupo bajo estrés.



p pre/1h:0,048 pre/6h:0,002 pre/24h<0,001 1/6h:0,016 1/24h:0,009 6/24h:ns

Tabla XII.- IL-6 grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-6 pre	42	0,00	97,48	22,63	3,59
IL-6 1h	42	0,00	176,82	35,22	5,62
IL-6 6h	42	0,00	264,68	60,65	6,01
IL6 24h	42	0,00	144,98	52,79	5,57
N válido (según lista)	42				

Figura 19. Estudio del TNF α en el grupo bajo estrés.

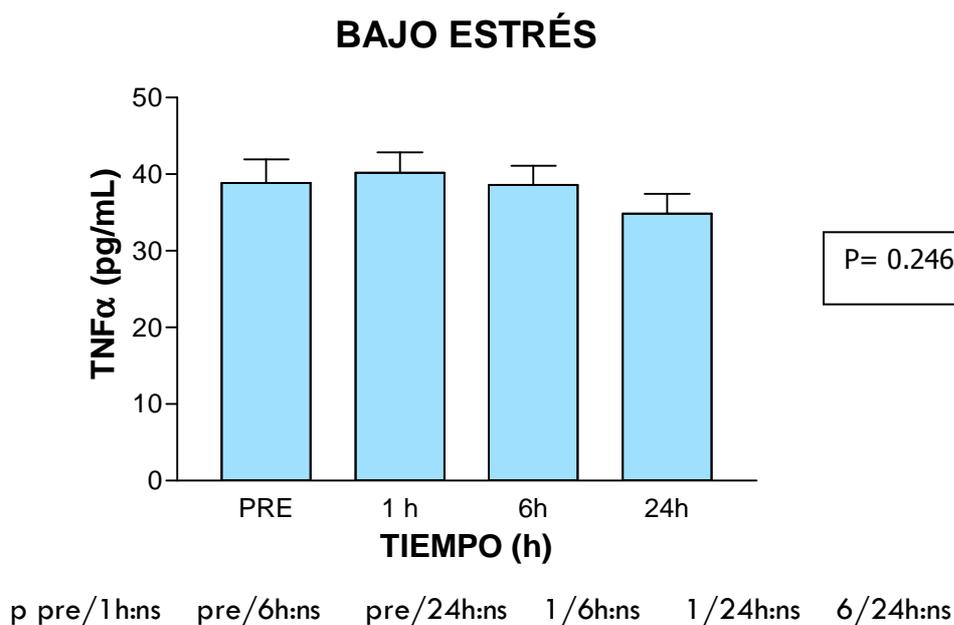
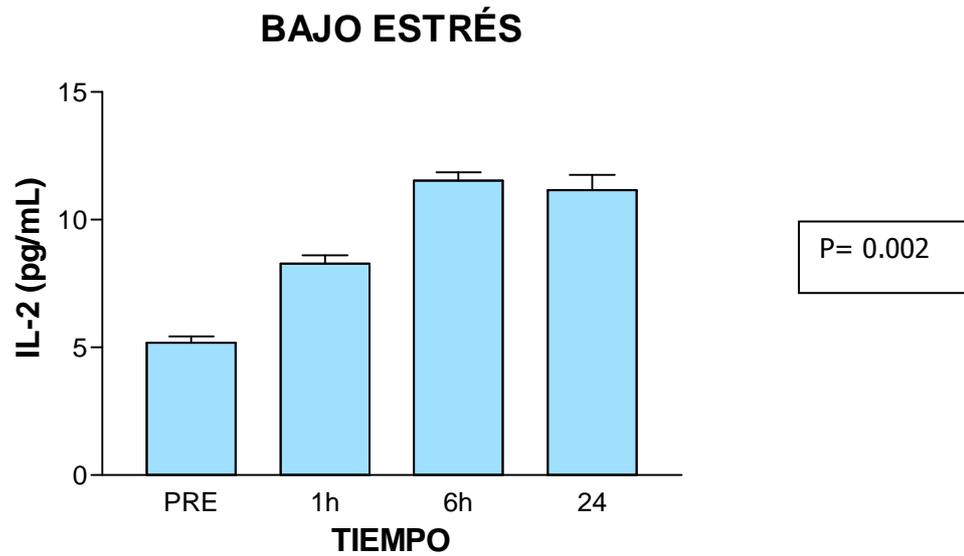


Tabla XIII.- TNF grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
TNF pre	42	8,63	88,83	38,82	3,07
TNF 1h	42	9,00	82,60	40,17	2,64
TNF 6h	42	7,88	77,43	38,62	2,46
TNF 24h	42	10,88	69,64	34,68	2,60
N válido (según lista)	42				

Figura 20. Estudio de la IL-2 en el grupo bajo estrés.



p pre/1h<0,001 pre/6h<0,001 pre/24h<0,001 1/6h:<0,001 1/24h:0,024 6/24h:ns

Tabla XIV. IL-2 grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-1 2 pre	42	0,00	9,87	5,20	0,25
IL-2 1h	42	0,00	12,80	8,28	0,33
IL-2 6h	42	0,94	11,59	11,53	0,33
IL-2 24h	42	0,32	13,16	11,49	0,60
N válido (según lista)	42				

Figura 21. Estudio de la IL-4 en el grupo de bajo estrés.

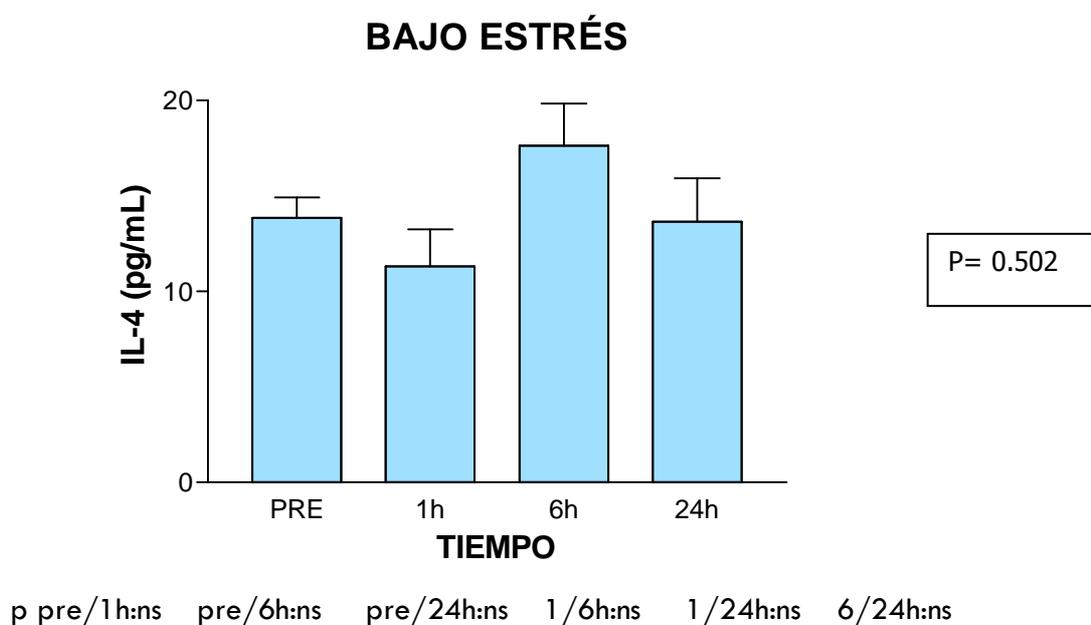
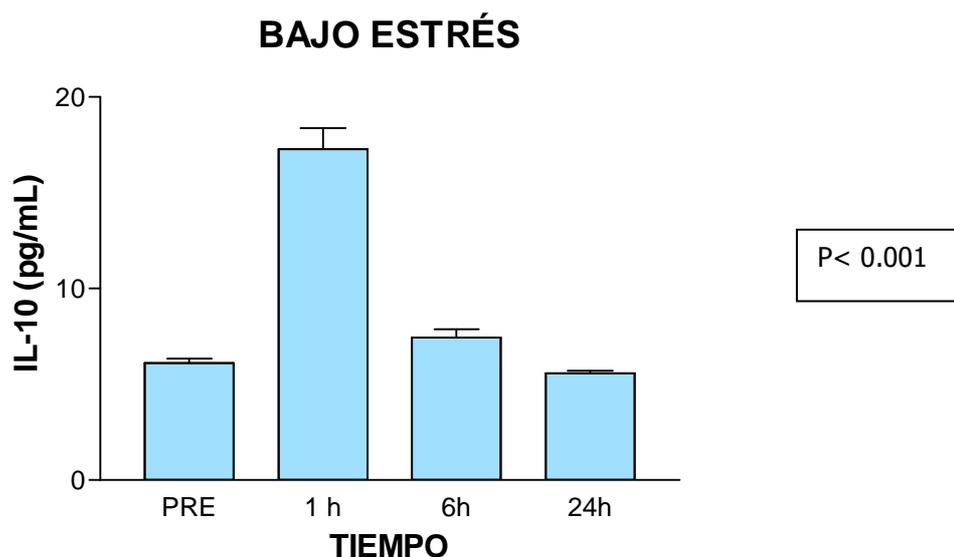


Tabla XV.- IL-4 grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-4 pre	42	0,00	28,90	13,84	1,09
IL-4 1h	42	0,00	14,54	11,32	1,92
IL-4 6h	42	0,00	98,00	17,64	2,26
IL-4 24h	42	0,00	26,80	13,38	1,10
N válido (según lista)	42				

Figura 22. Estudio de la IL-10 en el grupo bajo estrés.



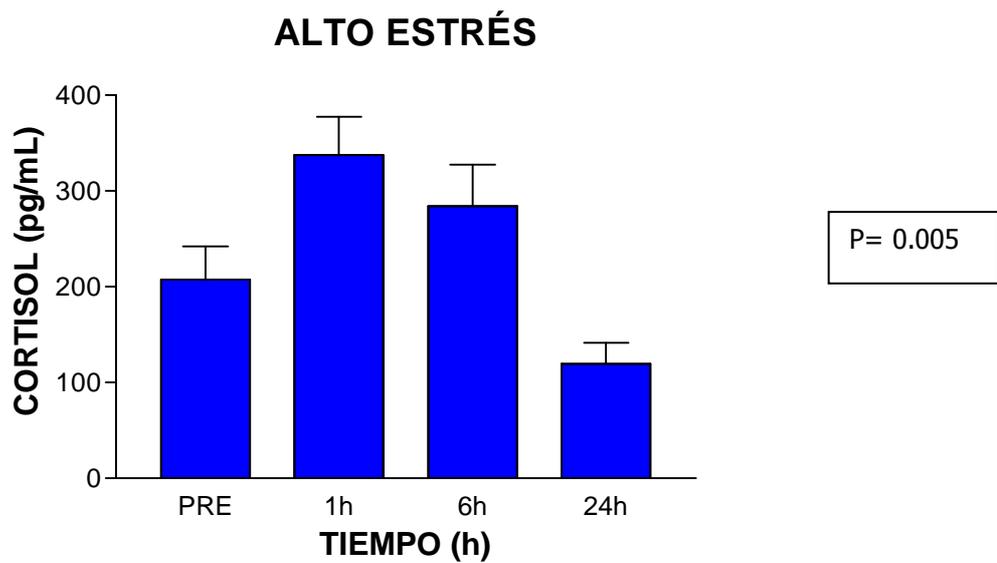
p pre/1h<0,001 pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h<0,001 1/24h<0,001 6/24h:0,040

Tabla XVI. IL-10 grupo bajo estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-10 pre	42	1,14	8,16	6,11	0,22
IL-10 1h	42	0,69	21,01	17,28	1,08
IL-10 6h	42	1,14	21,20	7,45	0,42
IL-10 24h	42	1,30	7,20	5,57	0,13
N válido (según lista)	42				

RESULTADOS ALTO ESTRÉS

Figura 23. Estudio del cortisol en el grupo de alto estrés.

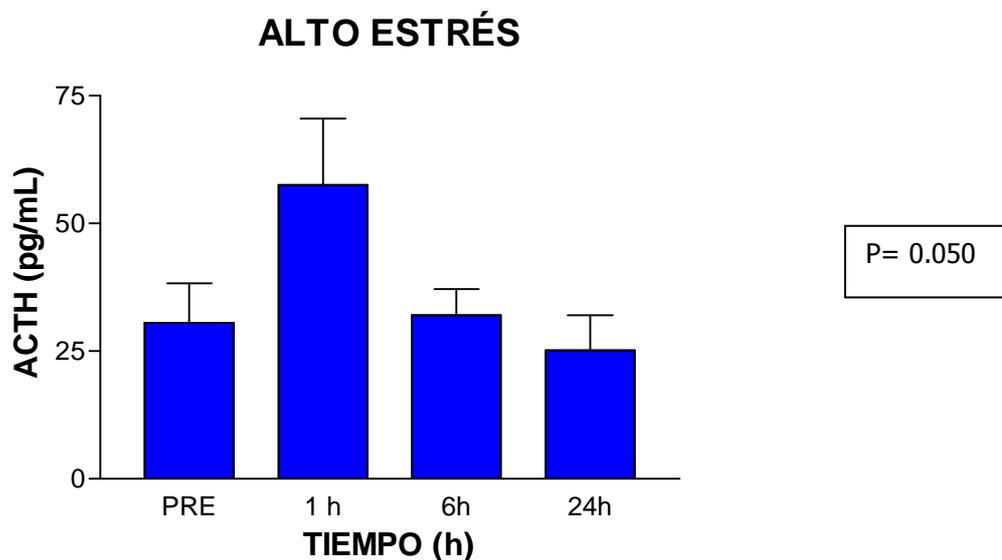


p pre/1h:0021 pre/6h:ns pre/24h:0,047 1/6h<0,001 1/24h<0,001 6/24h:0,010

Tabla XVII. Cortisol grupo alto estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
Cortisol pre	12	48,71	476,86	207,9265	35,82053
Cortisol1h	12	34,63	856,25	337,8237	40,51955
Cortisol6h	12	20,72	591,82	283,7632	43,82245
Cortisol24h	12	30,73	257,83	119,0435	22,27267
N válido (según lista)	12				

Figura 24. Estudio de la ACTH en el grupo alto estrés.



p pre/1h:ns pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h:0,048 6/24h:ns

Tabla XVIII.- ACTH grupo alto estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
ACTH pre	12	0,00	104,68	30,47	7,88
ACTH1h	12	14,90	171,05	57,47	13,09
ACTH 6h	12	16,63	84,51	32,02	5,05
ACTH 24h	12	4,71	98,63	25,11	6,99
N válido (según lista)	12				

Figura 25. Estudio de la IL-1 β en el grupo alto estrés.

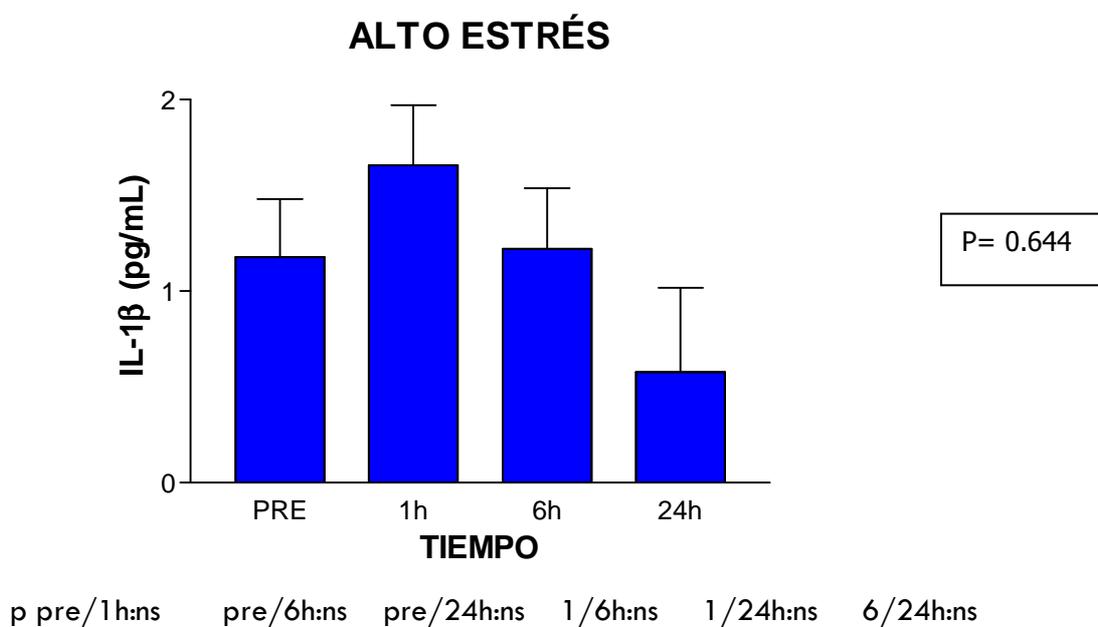
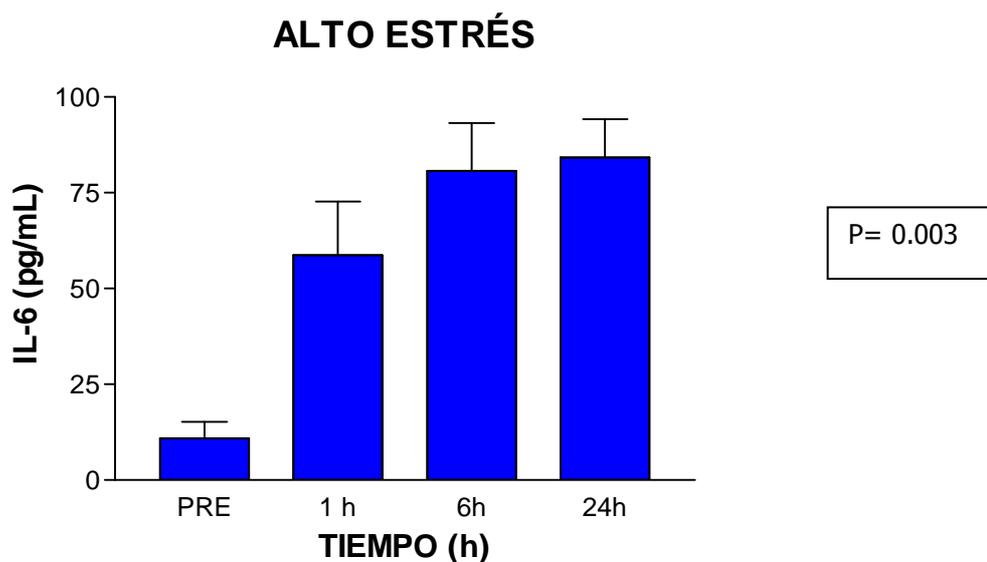


Tabla XIX.- IL-1 grupo alto estrés

	N Estadístico	Mínimo Estadístico	Máximo Estadístico	Media	
				Estadístico	Error típico
IL-1 pre	54	0,31	3,33	1,17	0,30
IL-1 1h	54	0,12	4,35	1,66	0,31
IL-1 6h	54	0,36	3,62	1,22	0,32
IL-1 24h	54	0,00	3,19	0,58	0,44
N válido (según lista)	54				

Figura 26. Estudio de la IL-6 en el grupo alto estrés.



p pre/1h<0,001 pre/6h<0,001 pre/24h<0,01 1/6h:ns 1/24h:ns 6/24h:ns

Tabla XX.- IL-6 grupo alto estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
				Estadístico	Error típico
IL-6 pre	12	0,00	41,70	10,85	4,40
IL-6 1h	12	0,00	134,95	58,58	14,83
IL-6 6h	12	5,82	131,05	80,69	12,40
il624h	12	0,00	104,65	84,18	10,85
N válido (según lista)	12				

Figura 27. Estudio del TNF α en el grupo alto estrés.

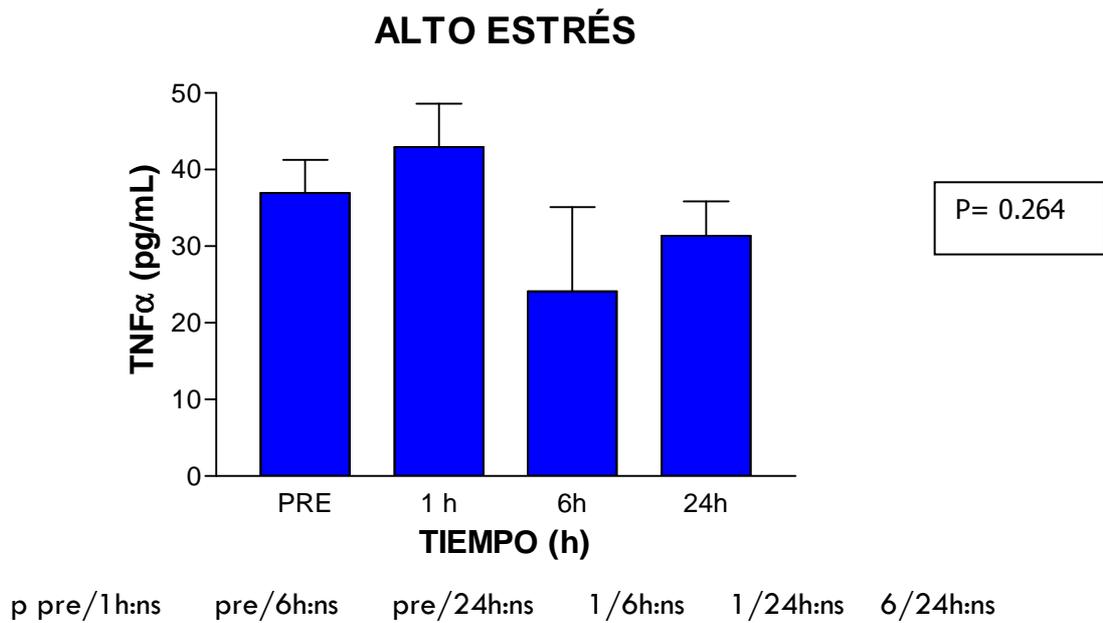
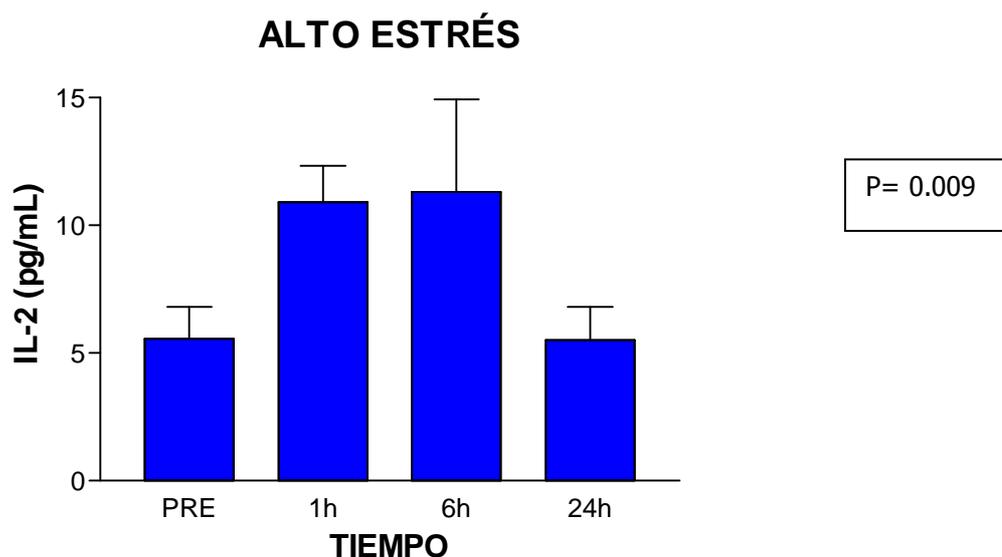


Tabla XXI.- TNF grupo alto estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
				Estadístico	Error típico
TNF pre	12	20,30	64,31	36,95	4,35
TNF 1h	12	17,70	68,77	42,88	5,74
TNF 6h	12	9,90	52,60	24,09	11,01
TNF 24h	12	9,58	62,29	31,31	4,53
N válido (según lista)	12				

Figura 28. Estudio de la IL-2 en el grupo alto estrés.



p pre/1h:0,017 pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h:ns 1/24h:0,017 6/24h:ns

Tabla XXII.- IL-2 grupo alto estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-2 pre	12	0,31	10,90	5,57	1,24
IL-2 1h	12	4,06	18,80	10,91	1,43
IL-2 6h	12	0,00	21,66	11,30	3,63
IL-2 24h	12	0,31	10,90	5,58	1,38
N válido (según lista)	12				

Figura 29. Estudio de la IL-4 en el grupo alto estrés.

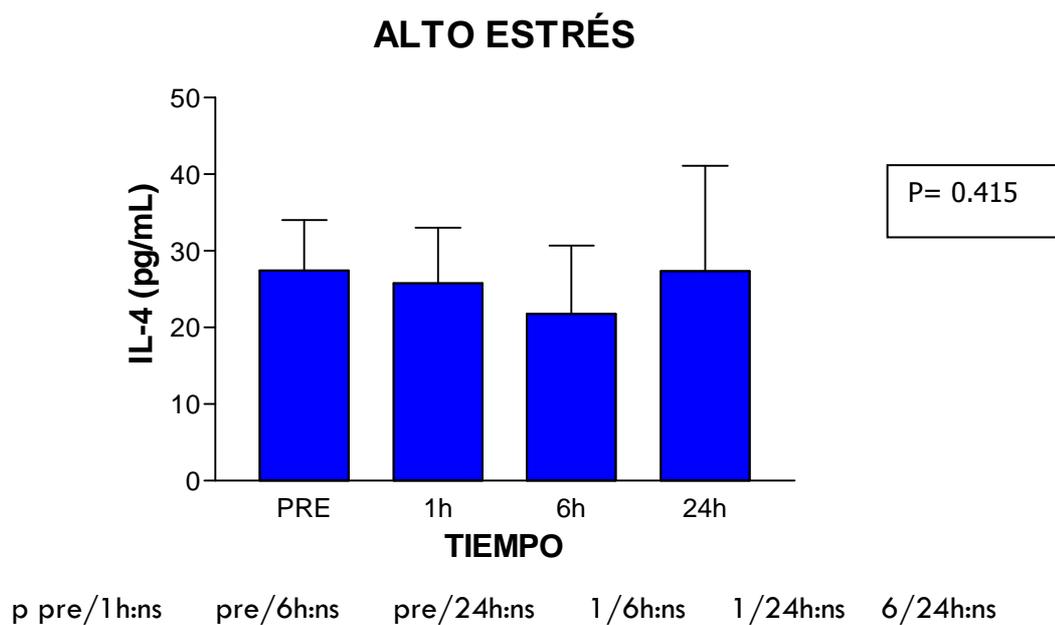
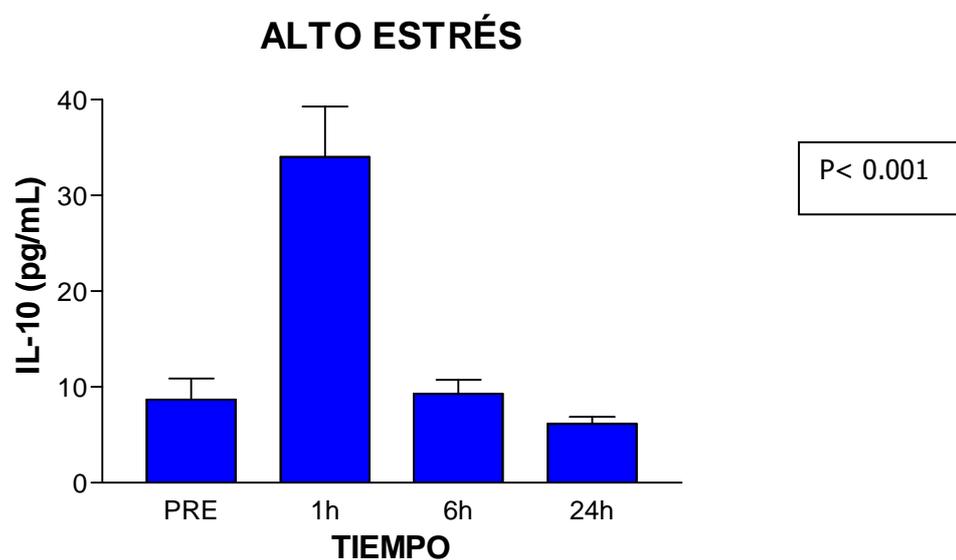


Tabla XXIII.- IL-4 grupo alto estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-4 pre	12	0,00	83,50	27,4325	6,59393
IL-4 1h	12	0,00	77,00	25,7813	7,26174
IL-4 6h	12	0,00	108,00	21,8101	8,91438
IL-4 24h	12	0,00	171,00	27,4139	13,70896
N válido (según lista)	12				

Figura 30. Estudio de la IL-10 en el grupo alto estrés.



p pre/1h<0,001 pre/6h:ns pre/24h:ns 1/6h<0.001 1/24h<0,001 6/24h:ns

Tabla XXIV. IL-10 grupo alto estrés

	N	Mínimo	Máximo	Media	
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error típico
IL-10 pre	12	1,30	32,10	8,7085	2,21306
IL-10 1h	12	6,94	48,00	34,0475	5,25880
IL-10 6h	12	4,60	20,40	9,3219	1,42162
IL-10 24h	12	2,36	11,30	6,1612	0,77243
N válido (según lista)	12				

Estudio intergrupar. Comparación de los grupos de bajo y alto estrés

Hormonas

Figura 31. Comparación del cortisol entre alto y bajo estrés

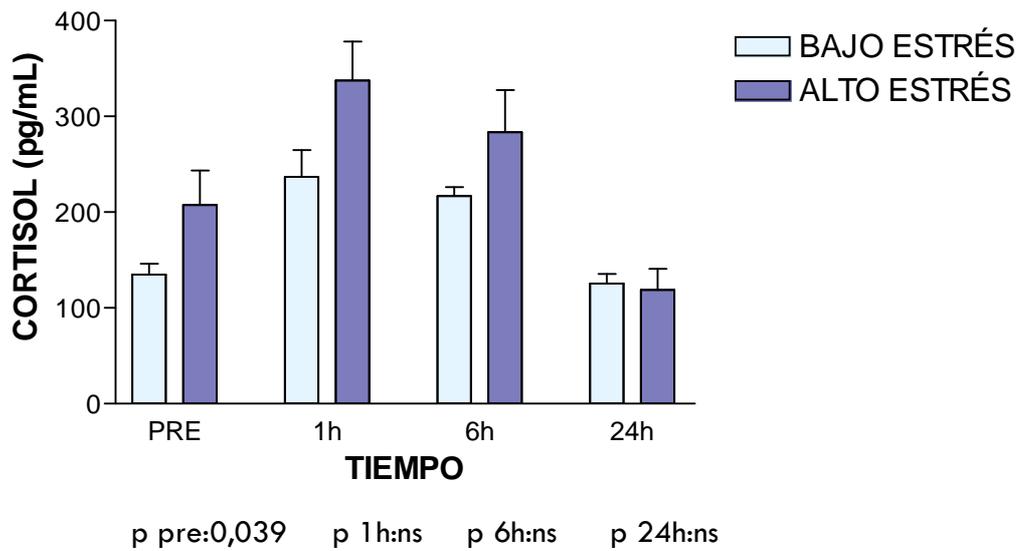
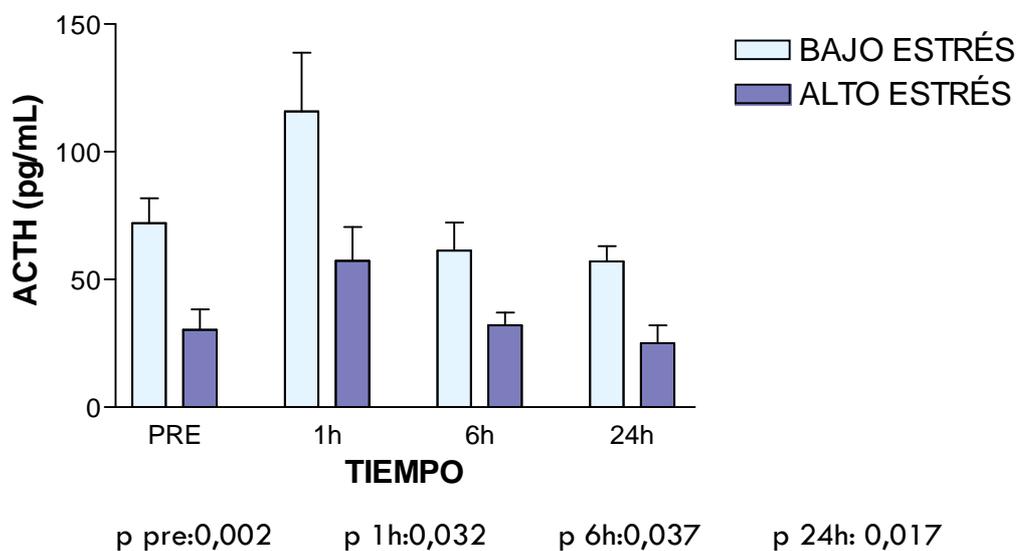


Figura 32. Comparación de ACTH entre alto y bajo estrés



Citoquinas proinflamatorias

Figura 33. Comparación de IL-1 β entre alto y bajo estrés

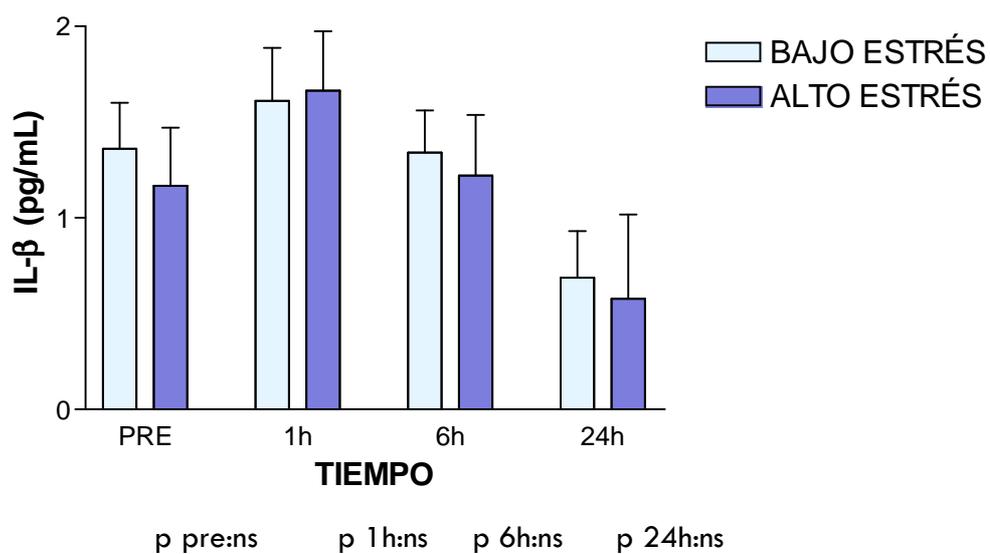


Figura 34. Comparación de IL-6 entre alto y bajo estrés

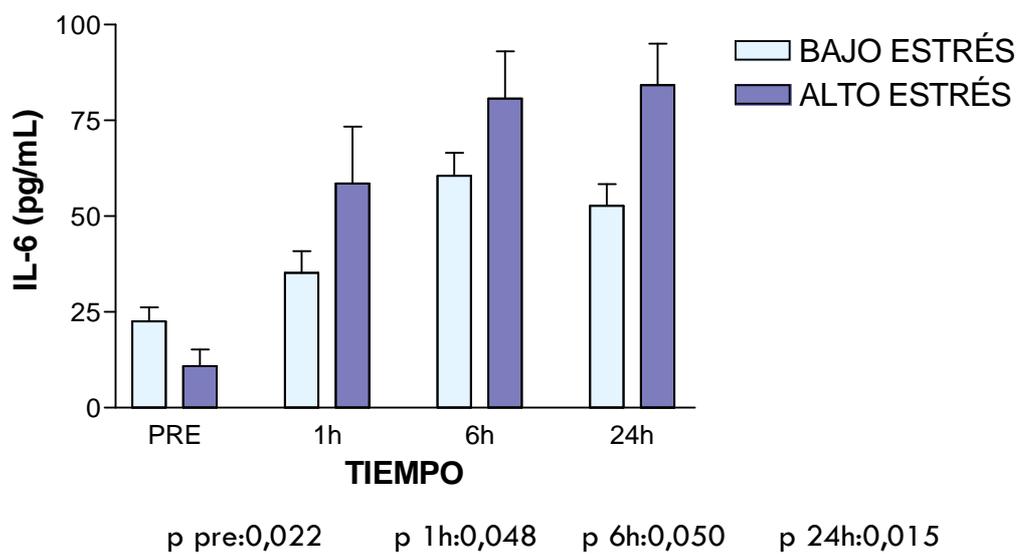
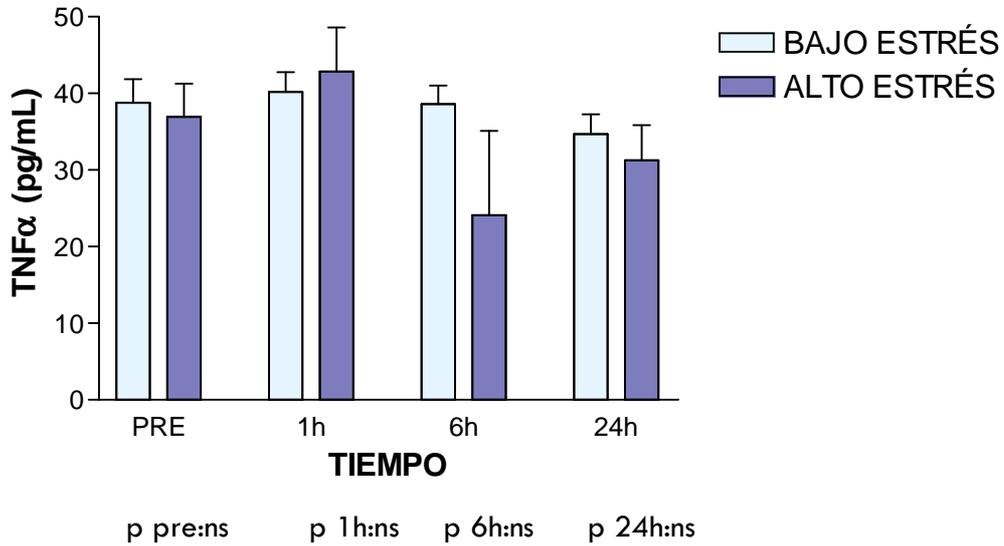


Figura 35. Comparación del TNF α entre alto y bajo estrés



Citoquinas antiinflamatorias

Figura 36. Comparación de IL-2 entre alto y bajo estrés

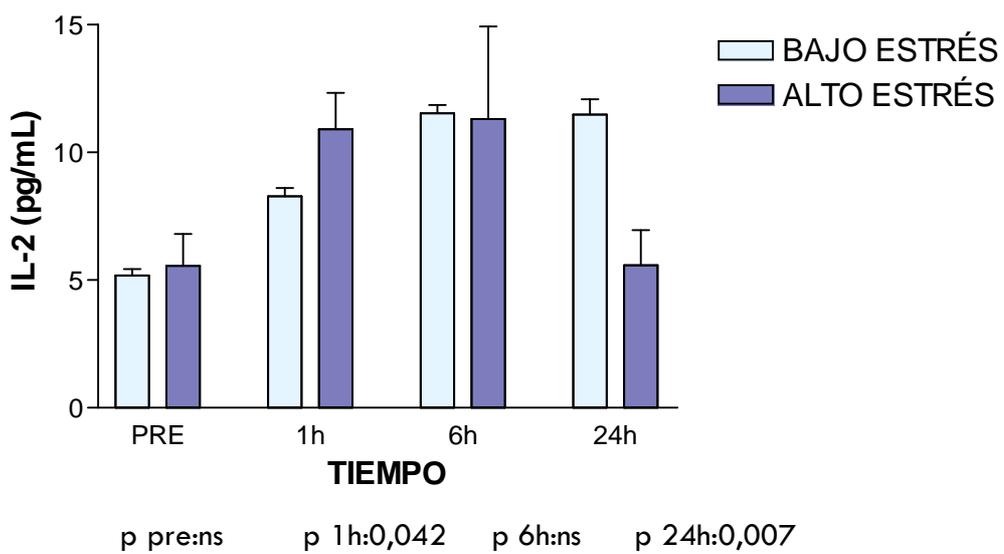


Figura 37. Comparación de IL-4 entre alto y bajo estrés

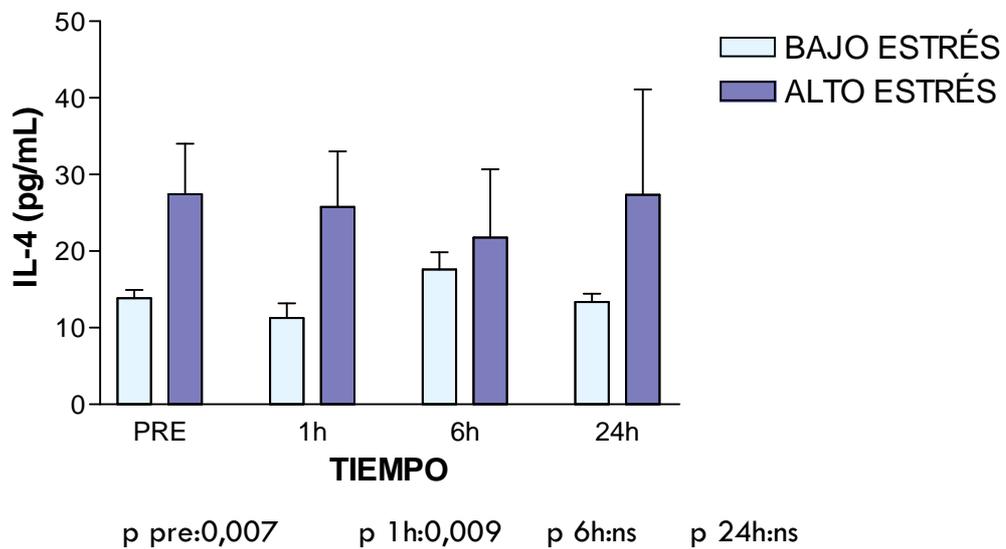
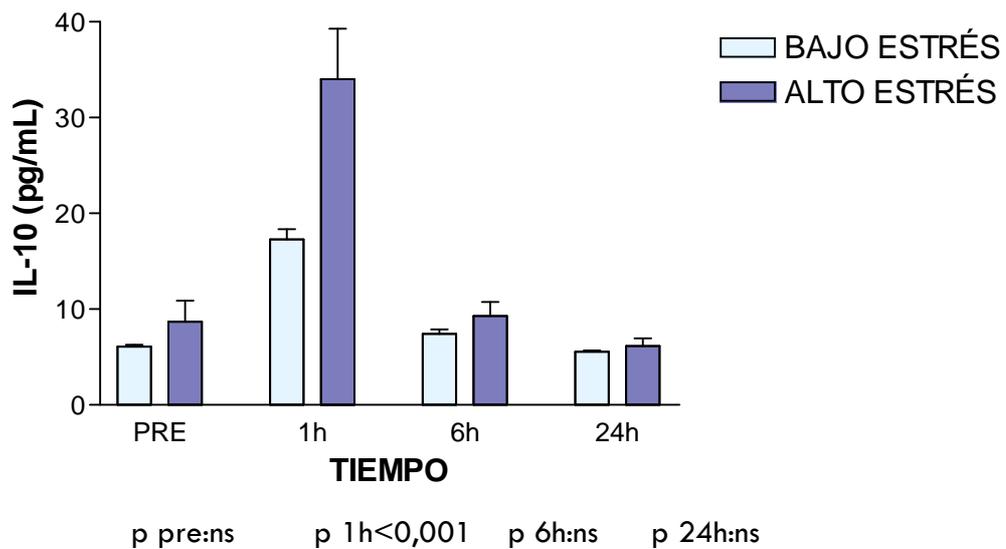


Figura 38. Comparación de IL-10 entre alto y bajo estrés



7. DISCUSIÓN

7.1 Efecto de la intervención quirúrgica sobre los parámetros considerados.

Para el estudio general se incluyeron 54 pacientes de edades comprendidas entre 3 y 15 años.

Según la descripción previa en el apartado de pacientes y métodos, se consideraron las variaciones de los valores plasmáticos de cortisol y ACTH, así como las concentraciones de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF α) y antiinflamatoria (IL-2, IL-4 e IL-10). En el caso de la IL-2, los autores no se ponen de acuerdo acerca del carácter inflamatorio (Hensler y col. 1997) o antiinflamatorio de la misma, si bien la mayoría la incluye dentro de este último grupo (Angele 2005, Borish 2003, Abbas 2002).

En relación a la concentración plasmática de cortisol (Figura 6, tabla I) se observa un incremento estadísticamente significativo entre el momento preoperatorio y la hora 1 tras la intervención, volviendo a los valores basales a las 24 horas tras la cirugía. El descenso entre la hora 1 y la hora 24 es estadísticamente significativo.

Por su parte, las concentraciones plasmáticas de ACTH varían significativamente en el mismo sentido que el cortisol a lo largo del período experimental. Los resultados descritos coinciden con los aportados por nuestro grupo de investigación y por diversos autores y, en principio, se relacionan directamente con el efecto de la cirugía, siendo independientes del dolor experimentado por el paciente, ya que en nuestras condiciones experimentales es prácticamente nulo, según se desprende de los resultados obtenidos al aplicar la escala de Hannallah (figura 6).

La existencia de una intensidad de dolor tan baja en el momento postoperatorio, indica que los niños incluidos en el estudio han recibido un nivel analgésico adecuado a la intensidad de la lesión generada por la intervención quirúrgica.

En nuestras condiciones experimentales se determinaron los valores plasmáticos de citoquinas diferenciando dos grupos, en función de su carácter pro o antiinflamatorio. En el grupo de citoquinas proinflamatorias se incluyeron la IL-1 β , el TNF α y la IL-6, mientras que en el otro se midieron los niveles plasmáticos de IL-2, IL-4 e IL-10.

Según se desprende de las figuras 9, 10 y 11 y las tablas III, IV y V, los valores de IL-1 β y TNF α no varían significativamente a lo largo del período experimental. Por su parte, las concentraciones plasmáticas de IL-6 se incrementan de forma significativa desde el momento preoperatorio hasta las 24 horas de la intervención quirúrgica, si bien el incremento entre la hora 1 y la hora 24 no es estadísticamente significativo. Nuestros resultados experimentales son coincidentes con los de otros autores (Choleain 2006, Mokart 2002) en relación con las concentraciones plasmáticas de IL-1 β y TNF α .

En cuanto al comportamiento de los niveles plasmáticos de IL-6 a lo largo del período de 24 horas tras la intervención quirúrgica, Nakamura y colaboradores (2003) describen un incremento estadísticamente significativo entre las horas 1 y 12 tras la intervención, que disminuye con respecto a la edad de los pacientes pediátricos desde neonatos hasta preescolares (1-5 años), siendo el comportamiento intragrupal muy similar al descrito por nuestro grupo de investigación.

Según se desprende de la información bibliográfica consultada (Menger 2004, Desborough 2000, Glaser 1995), la intervención quirúrgica incrementa directamente los niveles plasmáticos de IL-6, así como de IL-1 β y TNF α (Sasaki 2007). Es conveniente señalar que los datos encontrados pertenecen a estudios en la población adulta.

Se ha descrito igualmente la existencia de una cascada de citoquinas que se inicia con la liberación de TNF α , que a su vez aumenta los niveles plasmáticos de IL-1 β , influyendo ambos parámetros en la liberación de IL-6 que, finalmente disminuiría los niveles de IL-1 β y TNF α .

Por otra parte hay, según se desprende de la información bibliográfica consultada (Auphan 1995, Scheinmann 1995), una relación entre los niveles plasmáticos de IL-6 y los de cortisol, de forma que se genera un feed-back positivo entre ambos parámetros. El efecto de la intervención quirúrgica sería el incremento de los niveles plasmáticos de IL-6, que, a su vez produciría (actuando directamente sobre el hipotálamo) la liberación de CRH, y por tanto de ACTH, originando el incremento de los niveles plasmáticos de cortisol (Brotman, Golden y Wittstein, 2007).

El efecto antiinflamatorio del cortisol se realiza, entre otros mecanismos, a través del incremento de los valores plasmáticos de citoquinas antiinflamatorias, fundamentalmente de la IL-10, y disminuyendo al mismo tiempo los niveles plasmáticos de las proinflamatorias que actúan en primer lugar; IL-1 β y TNF α (Kashiwabara 2007, Sato 2002, Fillinger y 2002).

Nuestros resultados experimentales son coincidentes con los comentados por otros autores, en el sentido de que los incrementos de IL-6 se producen por el efecto directo de la intervención quirúrgica, y coinciden en el tiempo con el aumento en las concentraciones de cortisol, lo que, según la información bibliográfica, estaría asociado a la liberación de CRH (Kashiwabara

2007, Dekeiser 2000). Si bien los valores de cortisol a las 24 horas tras la intervención disminuyen, los de IL-6 se mantienen, en nuestras condiciones experimentales, hasta la hora 24 desde el fin de la cirugía, lo que coincide con la bibliografía; las concentraciones plasmáticas de interleuquina se mantienen elevadas hasta las 48 horas postquirúrgicas (Desborough 2000). Este mantenimiento de los niveles plasmáticos se asociaría al efecto liberador de IL-6 promovido por la liberación de otras citoquinas, por ejemplo, de IL-10 y otros mediadores titulares (Álvarez 2006).

De nuestros resultados experimentales no se desprende, como indica la bibliografía consultada, que haya incrementos en los valores plasmáticos de IL-1 β y TNF α , si bien la posible explicación sería que los incrementos plasmáticos de estos parámetros se producen rápidamente tras la agresión quirúrgica, por lo que la determinación a la hora de la intervención no ofrece información sobre cuáles son los cambios previos. Además, según describen algunos autores, habría un descenso de niveles plasmáticos tras el incremento del cortisol (Calogero 1992): Otra posible explicación de la no variación de los niveles de IL-1 β y TNF α sería la vida media plasmática tan corta que tienen; inferior a 6 minutos la IL-1 β e inferior a 20 minutos el TNF α (Linn 2000, Bocci 1994), lo que impide con el presente diseño experimental poner de manifiesto las posibles variaciones.

Los datos obtenidos en la concentración plasmática de las citoquinas antiinflamatorias consideradas en el presenta estudio (Figuras 12-14 y tablas VI-VIII) indican que se produce un incremento estadísticamente significativo entre los valores del momento preoperatorio y la hora 1, tanto en la IL-2 como en la IL-10. Los niveles plasmáticos volverían a los valores basales a las 24 horas de la intervención en el caso de la IL-10. La

reducción de la concentración entre las horas 1 y 24 sería estadísticamente significativa. Por su parte los valores de IL-4 no varían a lo largo del período considerado.

En la bibliografía consultada no aparecen referencias de la relación entre cirugía e IL-4, por el contrario, el efecto fundamental de la citada interleuquina sería la regulación de procesos alérgicos y de tipo infeccioso (Yorimitsu 2008, Madhok 2006), lo que podría justificar la constancia de los valores plasmáticos.

En relación a las variaciones de las interleuquinas 2 y 10, como se ha comentado anteriormente, hay una relación directa entre los niveles plasmáticos de cortisol y los de las citadas citoquinas, por tanto en nuestras condiciones experimentales el incremento de los niveles de cortisol justifica la subida de los niveles plasmáticos de ambas interleuquinas antiinflamatorias. El sentido fisiopatológico de estas variaciones sería, como es suficientemente conocido, tratar de mantener la homeostasis regulando el efecto proinflamatorio de la agresión quirúrgica mediante la liberación de factores antiinflamatorios. Esta explicación está suficientemente apoyada en el caso de la IL-10 por la información bibliográfica (Tu 2007, Tschoeke 2007, Choleain 2006, Tabardel 1996), aunque en el caso de la IL-2 su carácter pro o antiinflamatorio es más controvertido (Sugamura 1996, Choleain y Redmond, 2006).

De nuestros resultados se desprende que los niveles plasmáticos de IL-6 se mantienen elevados durante todo el período experimental. Se ha descrito una relación directa entre los niveles de IL-10 y los de IL-6, en el sentido de un incremento en la liberación de IL-6 por la liberación de IL-10.

En nuestras condiciones experimentales el incremento de la concentración de IL-10 justificaría la situación descrita, o al menos sería un factor que colaboraría en la elevación de los valores de IL-6.

7.2 Influencia del estrés quirúrgico sobre la liberación de citoquinas y hormonas de estrés.

Según el diseño experimental ya comentado, se establecieron dos grupos experimentales; uno de bajo estrés quirúrgico con un valor medio de Oxford 3,36 y otro de alto estrés con valor medio de 10,17.

7.2.1. Estudio del grupo de bajo estrés quirúrgico.

En el grupo de bajo estrés quirúrgico los niveles plasmáticos de cortisol (Figura 15, tabla IX) se elevan significativamente a la hora de la intervención, volviendo a los valores basales a las 24 horas de la agresión quirúrgica. Este comportamiento coincide con lo indicado anteriormente por nuestro grupo de investigación (Ramírez 2003, Castejón 2001, Valladares 2000, Palacio 1997) y con los datos aportados por otros autores (Marik 2003, Rosemberg 2001, Rivest 2001) y se debe al efecto de la intervención quirúrgica. Un comportamiento similar presenta la concentración plasmática de ACTH (Figura 16, tabla X), lo que es lógico debido a la conocida relación directa entre ambas hormonas.

De las citoquinas consideradas en el presente estudio, y dentro del grupo de las citoquinas proinflamatorias (Figuras 17-19) sólo muestra diferencias estadísticamente significativas la IL-6. Se produce un incremento de los

valores plasmáticos de esta citoquina desde la hora 1 tras la intervención a la hora 6, manteniéndose posteriormente los niveles elevados hasta la hora 24 postquirúrgica (Figura 18).

Dentro del grupo de las citoquinas antiinflamatorias (Figuras 20-22), la IL-4 no muestra variaciones significativas, mientras que la IL-2 y la IL-10 presentan un comportamiento muy similar al descrito en el grupo general. La IL-10 casi triplica los valores plasmáticos a la hora 1, con respecto a los valores preoperatorios, recuperando la situación basal a partir de las 6 horas de la intervención. La IL-2 muestra una línea ascendente con respecto al momento preoperatorio, tanto en la hora 1 como a las 6 horas de la intervención quirúrgica. A partir de la hora 6 se produce una meseta hasta el final del período experimental.

Ya se ha comentado en el apartado anterior la relación directa que existe entre los niveles plasmáticos de cortisol y las citoquinas pro y antiinflamatorias. Las variaciones intragrupalas en el caso de los pacientes de bajo estrés quirúrgico son muy similares a los descritos en el grupo general y obedecen a las mismas causas ya comentadas.

7.2.2. Estudio del grupo de alto estrés quirúrgico.

En relación al grupo de alto estrés quirúrgico se repite el comportamiento intragrupal de los distintos parámetros considerados (Figuras 23-30), no apareciendo diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones plasmáticas de las citoquinas IL-1 β , IL-4 y TNF α a lo largo del período experimental. La IL-6 se comporta de la manera descrita en el grupo de bajo estrés, con incrementos significativos entre el momento

preoperatorio y la hora 6, manteniéndose los valores elevados hasta la hora 24.

El comportamiento de las concentraciones plasmáticas de la IL-2 en el grupo de alto estrés quirúrgico indica que se produce un aumento significativo en los valores entre el momento preoperatorio y la hora 1 tras la intervención quirúrgica. Los valores se mantienen a la hora 6 y descienden significativamente a las 24 horas, con respecto a la hora 1 de la intervención.

Los resultados obtenidos en relación con los niveles de IL-10, éstos muestran un incremento significativo, superior al cuádruple del valor preoperatorio, en la primera hora tras la intervención quirúrgica, recuperándose posteriormente los valores basales.

El estrés quirúrgico produce una elevación en los valores plasmáticos de cortisol como ya se ha puesto de manifiesto en trabajos previos del grupo de investigación (Ramírez 2003, Castejón 2001, Valladares 2000). Este efecto se relaciona directamente con los valores plasmáticos de IL-6 que se incrementan por el efecto de la agresión quirúrgica y que, a su vez, se vuelve a incrementar por el propio efecto de la liberación de cortisol, lo que condiciona el efecto de meseta observado en las concentraciones plasmáticas tanto de IL-6 como de IL-2. El comportamiento de estas citoquinas así como el de la IL-10 se asocia de forma directa al efecto antiinflamatorio del cortisol, que propicia el aumento de los niveles plasmáticos de citoquinas antiinflamatorias como ya se ha descrito en el apartado anterior.

7.2.3. Estudio intergrupar del estrés quirúrgico.

Del estudio intergrupar en relación con el estrés quirúrgico se desprende que los valores plasmáticos de cortisol (Figura 31) no muestran variaciones estadísticamente significativas, si bien se produce una marcada diferencia, con valores más elevados en el grupo de alto estrés en las horas 1 y 6 del postoperatorio. Aunque en este caso la diferencia de concentraciones no es estadísticamente significativa, ésta sí se ha puesto de manifiesto en trabajos previos de nuestro grupo de investigación y de otros autores (Naito 1992, Woiciechowsky 1999), por lo que en este caso la falta de significación debe explicarse por el bajo número de pacientes incluidos en el grupo de alto estrés quirúrgico.

Los resultados obtenidos en relación con los niveles de ACTH son inversos a los descritos para el cortisol, pero en este caso sí hay diferencias estadísticamente significativas. Este comportamiento se relaciona inversamente con los niveles plasmáticos de cortisol, más elevados en el grupo de alto estrés.

La comparación de los valores plasmáticos de IL-1 β y TNF α (Figuras 33 y 35) no muestra diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de alto y el de bajo estrés. Los resultados comentados disienten de los aportados (Kawasaki 2007, Angele 2005) puesto que estos autores encuentran una disminución de los valores plasmáticos de las citoquinas indicadas, en relación con la mayor inmunosupresión producida al aumentar el estrés quirúrgico, si bien estos resultados se han obtenido en adultos.

La figura 37 muestra los resultados de la comparación de valores plasmáticos de IL-4 en ambos grupos experimentales. Se observan

diferencias estadísticamente significativas en el momento preoperatorio y en la hora 1 postquirúrgica, sin embargo es posible que estas diferencias se deban a las que existen entre los grupos de alto y bajo estrés en el momento preoperatorio, ya que en los diferentes momentos experimentales siguientes, comparando los valores intragrupal, no hay variaciones en las concentraciones plasmáticas de IL-4. No se interpretarán las diferencias comentadas entre ambos grupos, puesto que no se encuentra una explicación fiable sobre las diferencias en la concentración en el momento preoperatorio entre los grupos de alto y bajo estrés quirúrgico.

Con respecto a los resultados de IL-6, la figura 34 indica que existe una diferencia estadísticamente significativa en todos los momentos experimentales con valores superiores en el grupo de alto estrés. Estos resultados son coincidentes con los aportados por diversos autores en pacientes adultos (Menger 2004, Hildebrandt 2003, Mokart 2002, Cruickshank 1990). Sin embargo, no existe en la bibliografía consultada ningún dato aportado sobre pacientes pediátricos, si bien Nakamura y colaboradores (2003) comentan, sin aportar datos, la no relación entre estrés quirúrgico, según la escala de Oxford, y la concentración en plasma de IL-6 e IL-10.

Los resultados de la comparación intergrupal de los valores plasmáticos de IL-10 (Figura 38) muestran una diferencia estadística altamente significativa en la primera hora después de la intervención, con valores mucho más elevados en el grupo de alto estrés.

Una vez más estos resultados hay que enmarcarlos en los efectos de los incrementos en la concentración plasmática de cortisol, mayores en el caso del alto estrés quirúrgico. En este sentido, las elevaciones significativas de los niveles de IL-6 e IL-10 se deben al efecto estimulante del cortisol, y

median su acción antiinflamatoria. No hay que olvidar tampoco el efecto agonista de la IL-10 sobre la liberación de IL-6, por lo que el incremento mayor de aquella por efecto del estrés quirúrgico sería, en gran parte, responsable del efecto meseta descrito en los valores plasmáticos de IL-6 (citas)

La comparación de las concentraciones de IL-2 entre ambos grupos experimentales (Figura 36) muestra un incremento estadísticamente significativo en la hora 1 tras la intervención, con una concentración más alta en el grupo de alto estrés, lo que justifica este comportamiento similar al observado en la IL-10, también de carácter antiinflamatorio. Por el contrario, la significación estadística de la hora 24 no sería fácilmente explicable, ya que si bien podría relacionarse con la caída de la concentración de IL-10, mayor en el grupo de alto estrés quirúrgico, dicha caída podría generar un mayor descenso en la liberación de IL-2 (Álvarez 2006). No disponemos, en nuestras condiciones experimentales de una explicación plausible.

8. CONCLUSIONES

1. La cirugía “per se” induce un aumento de la concentración plasmática de los vectores endocrinológicos y de las interleuquinas 2, 6 y 10.
2. La cirugía no produce efectos significativos sobre las concentraciones plasmáticas de IL-1 β , TNF α e IL-4.
3. Las interleuquinas 2, 6 y 10 son parámetros que reflejan fielmente la intensidad del estrés quirúrgico en el paciente pediátrico, existiendo relación directa entre la liberación de estas citoquinas y el grado de estrés alcanzado en la intervención.
4. El comportamiento de los mediadores inflamatorios es independiente del dolor experimentado por el niño sometido a intervención quirúrgica.

CONCLUSIÓN GENERAL

El perfil de las concentraciones plasmáticas de las interleuquinas IL-2, IL-6 e IL-10, en nuestras condiciones experimentales, es indicador del estrés quirúrgico sufrido por el niño sometido a intervención quirúrgica.

Se consideran necesarias investigaciones ulteriores que esclarezcan de forma más patente el sentido de las variaciones fisiológicas consideradas, tratando de establecer la aplicabilidad clínica del presente estudio.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas AK, Lichtman AH. "Cellular and Molecular Immunology".
5th edn. Saunders 2002, Philadelphia USA.
2. Adam F, Chauvin M, Du Manoir M, Langlois M, Sessler D, Fletcher D.
"Small-dose ketamine infusion improves postoperative analgesia and
rehabilitation after total knee arthroplasty".
Anesth Analg 2005, 100:475–80.
3. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wuthrich B, Blaser K. "Role of IL-10 in
specific immunotherapy". *J Clin Invest* 1998, 102:98-106.
4. Akural EI, Salomäki TE, Bloigu AH, Ryhänen P, Tekay AH, Alahuhta SM,
Surcel HM.. "The effects of pre-emptive epidural sufentanil on human
immune function". *Acta Anaesthesiol Scand*. 2004, 48(6):750-5.
5. Alberti KG, Batstone GF, Foster KJ, Johnston DG. "Relative role of
various hormones mediating the metabolic response to injury.
JPEN 1980, 4:141–146.
6. Alcaraz AJ, Manzano L, Sancho L, Vigil MD, Esquivel F, Maroto E, Reyes
E, Alvarez-Mon M.. "Different proinflammatory cytokine serum pattern in
neonate patients undergoing open heart surgery. Relevance of IL-8".
J Clin Immunol 2005, 25(3):238-245
7. Álvarez C. "Reacción inflamatoria en cirugía cardíaca".
Rev Latinoamer Tecnol Extracorp 2006, XIII,2

8. Anand KJ, Aynsley-Green A. "Measuring the severity of surgical stress in newborn infants". *J Pediatr Surg* 1988, 23:297–305.
9. Anand KJ, Brown MJ, Causon RC, Christofides ND, Bloom SR, Aynsley-Green A. "Can the human neonate mount an endocrine and metabolic response to surgery?" *J Pediatr Surg* 1985, 20:41–48.
10. Angele MK, Faist E. "Clinical review: immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection". *Crit Care* 2002, 6(4):298-305.
11. Angele MK, Chaudry IH. "Surgical trauma and immunosuppression: pathophysiology and potential immunomodulatory approaches". *Langenbecks Arch Surg.* 2005, 390(4):333-41.
12. Aono J, Ueda W, Kataoka Y, Manabe M. "Differences in hormonal responses to preoperative emotional stress between preschool and school children". *Acta Anaesthesiology Scandinavian* 1997, 41: 229-23.
13. Auphan N, Donato JA di, Rosette C, Helmberg A, Karin M. "Immunosuppression by glucocorticoids inhibition of NF-B activity through induction of IL-B Synthesis". *Science* 1995, 270:286–290.
14. Astiz M, Saha D, Lustbader D, et al. "Monocyte response to bacterial toxins, expression of cell surface receptors, and release of anti-inflammatory cytokines during sepsis". *J Lab Clin Med* 1996, 128: 594–600.

15. Ayala A, Lehman DL, Herdon CD, Chaudry IH. "Mechanism of enhanced susceptibility to sepsis following hemorrhage. Interleukin-10 suppression of T-cell response is mediated by eicosanoid-induced interleukin-4 release". *Arch Surg* 1994, 129:1172-1178.
16. Baggiolini M. "Chemokines and leukocyte traffic". *Nature*. 1998, 9;392(6676):565-8.
17. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. "Systemic cytokine response after major surgery". *Br J Surg* 1992, 79:757-760.
18. Baranowski AP, De Courcey J, Bonello E. "A trial of intravenous lidocaine on the pain and allodynia of postherpetic neuralgia". *J Pain Symptom Manage* 1999, 17:429-33.
19. Baumann H, Gauldie J. "The acute phase response". *Immunol Today* 1994, 15:74-80
20. Baxevasis C, Papilas K, Dedoussis G, Paulis T, Papamichaelis M. "Abnormal cytokine serum levels correlate with impaired cellular immune responses after surgery". *Clinical immunology and immunopathology*. 1994, 71, 82-88.
21. Beale E, Zhu J, Belzberg H. "Changes in serum cortisol with age in critically ill patients". *Gerontology*. 2002, 48(2):84-92.

22. Beilin B, Bessler H, Mayburd E, et al. "Effects of preemptive analgesia on pain and cytokine production in the postoperative period".

Anesthesiology 2003; 98: 151–5.

23. Beilin B, Shavit Y, Trabekin E, et al. "The effects of postoperative pain management on immune response to surgery". *Anesth Analg* 2003; 97: 822–7.

24. Berde CB, Lehn BM, Yee JD, Sethna NFG, Russo D. "Patient-controlled analgesia in children and adolescents: a randomized, prospective comparison with intramuscular administration of morphine for postoperative analgesia". *J Pediatr* 1991, 118: 460-466.

25. Besedovsky HO., Del Rey A. "Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses". *Endocr. Rev.* 1996, 17: 64-102.

26. Beutler B, Cerami A. "The biology of cachectin/TNF a primary mediator of the host response". *Annu Rev Immunol* 1989, 7:625-655

27. Bethin KE, Vogt SK, Muglia LJ. "Interleukin-6 is an essential, corticotropin-releasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation". *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000, 97(16):9317-22

28. Biffi WL, Moore EE, Moore FA, Peterson VM. "Interleukin-6 in the injured patient. Marker of injury or mediator of inflammation?".

Ann Surg 1996, 224:647-664.

29. Bocci V. "Interleukins. Clinical pharmacokinetics and practical implications". *Clin Pharmacokinet* 1991, 21:274–284.

30. Bocci V. "Pharmacology and side-effects of interferons".
Antiviral Res. 1994 Jul;24(2-3):111-9.

31. Boldt J, Ducke M, Kumle B, Papsdorf M, Zurmeyer EL. "Influence of different volume replacement strategies on inflammation and endothelial activation in the elderly undergoing major abdominal surgery".
Care Med 2004, 30:416-422.

32. Bone RC . "Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS".
Crit Care Med 1996, 24:1125–1128.

33. Borish LC, Steinke JW. "Cytokines and chemokines".
J Allergy Clin Immunol 2003,111(2 Suppl):S460-475.

34. Bozkurt P, Kaya G, Altintas F, Yeker Y, Hacibekiroglu M, Emir H, Sarimurat N, Tekant G, Erdogan E. "Systemic stress response during operations for acute abdominal pain performed via laparoscopy or laparotomy in children". *Anaesthesia* 2000,55:5–9.

35. Broadman LM, Rice LJ, Hannallah RS. "Testing the validity of an objective pain scale for infants and children". *Anesthesiology* 1988, 69:A770.

36. Broadman L, Hannallah RS. "Evaluation of an objective pain scale for infants and children". *Regional Anesthesia* 1988, 13: 45-6.
37. Butkovic D, Kralik S, Matolic M, Jakobovic J, Zganjer M, Radesic L.. "Comparison of a preincisional and postincisional small dose of ketamine for postoperative analgesia in children". *Bratisl Lek Listy*. 2007, 108(4-5):184-8.
38. Calogero AE, Norton JA, Sheppard BC, Listwak SJ, Cromack DT, Wall R, Jensen RT, Chrousos GP. "Pulsatile activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during major surgery". *Metabolism*. 1992, 41(8):839-45.
39. Castejón J, Moreno M, Valladares J C, Alaminos M, López E, Ramirez A. "Hormonal response to surgical stress in schoolchildren". *European Journal Pediatric Surgery* 2001, 11: 44-47.
40. Cervero F, Laird MA."Mechanisms of touch-evoked pain (allodynia): a new model". *Pain* 1996, 68: 13-23.
41. Chachkhiani I, Gürlich R, Maruna P, Frasko ar, Lindner J. "The postoperative stress response and its reflection in cytokine network and leptin plasma levels". *Physiol. Res*. 2002, 54:279-285.
42. Choileain N, Redmond P. "Cell response to surgery". *Arch Surg*. 2006, 141:1132-1140

43. Chrousos GP. "Stressors, stress and neuroendocrine integration of the adaptative response". *Annals New York Accademy of sciences* 1997, 311-335.
44. Chuang J, Lin J, Lee J, Jawan B, Fung S, Wang P. "Endorphin and cortisol response to surgical stress in newborn and infants". *Pediatr Surg Int* 1990, 5:100–102
45. Cohen M, Pizckard D, Dubois m, Roth Y, Naber D, Bunney W. "Surgical stress and endorphins". *The Lancet*.1981, 24: 213-4.
46. Conti P, Kempuraj D, Frydas S. et al. "IL-10 subfamily members ; IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26". *Immunol Lett* 2003, 88 :171-4.
47. Coran AG. "Apoyo nutricional." En: Ashcraft K, Holder T(eds.). *Cirugía pediátrica*. 2ª Edición. México. Editorial Interamericana McGraw Hill; 1995. 20-44.
48. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, et al. "Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity". *Clin Sci* 1990, 79: 161–5.
49. Cunha FQ, Ferreira SH. "Peripheral hyperalgesic cytokines". *Adv Exp Med Biol* 2003, 521:22-39.

50. Dal D, Kanbak M, Caglar M, Aypar U. "A background infusion of morphine not enhance postoperative analgesia after cardiac surgery".

Can. J. Anaesth. 2003, 50(5): 476-9

51. De Jongh RF, Vissers KC, Booij LH, De Jongh KL, Vincken P, Meert TF. "Interleukin-6 and perioperative thermoregulation and HPA-axis activation". *Cytokine.* 2003, 21(5):248-56

52. Dekeyser FG, Leker RR, Weidenfeld J. "Activation of the adrenocortical axis by surgical stress: involvement of central norepinephrine and interleukin-1". *Neuroimmunomodulation* 2000, 7(4): 182-8.

53. Desborough JP. "The stress response to trauma and surgery". *British Journal of Anaesthesia* 2000, 85: 109-117.

54. Dina OA, McCarter GC, de Coupade C, Levine JD. "Role of the sensory neuron cytoskeleton in second messenger signaling for inflammatory pain". *Neuron* 200,; 39(4):613-24.

55. Dinarello CA. "Biologic basis for interleukin-1 in disease". *Blood* 1996; 87(6):2095-2147.

56. Dinarello C.A. "The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome". *Journal of Infectious Diseases* 1991, 163:1177-84.

57. Doughty L, Carcillo JA, Kaplan S, Janosky J (1998) TA, Kaplan S, Janosky J. "The compensatory anti-inflammatory cytokine interleukin 10 response in pediatric sepsis induced multiple organ failure".

Chest 1998, 113: 1625–31.

58. Dorman T, Clarkson K, Rosenfeld BA, et al. "Effects of clonidine on prolonged postoperative sympathetic response".

Crit Care Med 1997; 25: 1147–52.

59. Dunn A. "Cytokine activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis". Handbook of stress and the brain Part 2: Stress: integrative and clinical aspects. 2005 . Elsevier, Amsterdam, 157-174.

60. Dunn AJ. "Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry".

Psychoneuroimmunology Academic press. 2001, 649-666.

61. Edelson MB, Bagwell CE, Rozycki HJ. "Circulating pro and antiinflammatory cytokine levels and severity in necrotizing enterocolitis".

Pediatrics 1999, 103:766–771.

62. Eggum R, Ueland T, Mollnes T, Videm V, Aukrust P, Fiane A, Lindberg H. "Effect of perfusion temperature on the inflammatory response during pediatric cardiac surgery"

Ann Thorac Surg 2008, 85:611–7

63. Eisenach JC, De Kock M, Klimscha W. "alpha(2)-Adrenergic agonists for regional anesthesia: a clinical review of clonidine (1984–1995)".

Anesthesiology 1996, 85: 655–74

64. Elliot M., Albert KGM. “The hormonal and metabolic response to surgery and trauma.” *New Aspects of Clinical Nutrition*. 1996: 247-270.

65. Ertel W, Kremer JP, Kenny J, et al. “Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients”. *Blood* 1995, 85: 1341–7.

66. Faist E, Schinkel C, Zimmer S. “Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immunomodulation”. *World J Surg* 1996, 20:454–459.

67. Feng Y, Ju H, Yang H, An H. “Effects of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor on postoperative inflammatory reaction and pain after total knee replacement”. *J Pain*. 2008 Jan;9(1):45-52. Epub 2007 Oct 18.

68. Fiebig E, Ley K, Arfors KE. “Rapid leukocyte accumulation by “spontaneous” rolling and adhesion in the exteriorized rabbit mesentery” *Int J Microcirc Clin Exp*. 1991, 10:127-144.

69. Fillinger MP, Rassias AJ, Guyre PM, Sanders JH, Beach M, Pahl J, Watson RB, Whalen PK, Yeo KT, Yeager MP.

“Glucocorticoid effects on the inflammatory and clinical responses to cardiac surgery”. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2002, 16(2):163-9.

70. Giamarellos-Bourboulis EJ, Zakyntinos S, Baziaka F, et al. "Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 as an anti-inflammatory mediator in sepsis". *Intensive Care Med.* 2006,32: 237–243.

47. Glaser F, Sannwald GA, Buhr HJ, Kuntz C, Mayer H, Klee F, Herfarth C. "General stress response to conventional and laproscopic cholecystectomy". *Ann Surg* 1995, 221:372–380.

72. Gletsu N, Lin E, Zhu JL, et al. "Increased plasma interleukin 6 concentrations and exaggerated adipose tissue interleukin 6 content in severely obese patients after operative trauma". *Surgery.* 2006,140:50 – 57.

73. Goldman RD, Koren G. "Biologic markers of pain in the vulnerable infant". *Clin. Perinatol.* 2002, 29(3):415-425.

74. Gormley SM, McBride WT, Armstrong MA, McClean E, MacGowan SW, Campalani G, McMurray TJ. "Plasma and urinary cytokine homeostasis and renal function during cardiac surgery without cardiopulmonary bypass". *Cytokine* 2002;17(2):61-65.

75. Guillemin R, Vargo T, Rossier J, Mink S, Ling N, Rivier C, Vale W, Bloom R. "Beta endorphin and adrenocorticotropin are secreted by the pituitary gland". *Science* 1977,197:1367-1369

76. Gürgöze MK, Akarsu S, Yılmaz E, Gödekmerdan A, Akça Z, Ciftçi I, Aygün AD. "Proinflammatory cytokines and procalcitonin in children with acute pyelonephritis". *Pediatr Nephrol* 2005, 20(10):1445-1448.

77. Hafez HM, Berwanger CS, McColl A, Richmond W, Wolfe JH, Mansfield AO, Stansby G. "Myocardial injury in major aortic surgery". *J Vasc Surg.* 2000, 31(4):742-50.

78. Helmy SA, Wahby MA, El-Nawaway M. "The effect of anaesthesia and surgery on plasma cytokine production". *Anaesthesia* 1999, 54:733-738.

79. Helmy SA, Bali A. "The effect of the preemptive use of the NMDA receptor antagonist dextromethorphan on postoperative analgesic requirements". *Anesth Analg* 2001, 92:739-44.

80. Hennein HA, Mendeloff EN, Cilley RE, Bove EL, Coran AG. "Predictors of postoperative outcome after general surgical procedures in patients with congenital heart disease". *J Pediatr Surg.* 1994, 29(7):866-70.

81. Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke CD, Bartels H, Barthlen W, Wagner H, Siewert JR, Holzmann B. "Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery". *Infect Immun* 1997, 65:2283-2291.

82. Henzen C, Kobza R, Schwaller-Protzmann B, Stulz P, Briner VA "Adrenal function during coronary artery bypass grafting". *Eur J Endocrinol.* 2003,148(6):663-8

83. Hietbrink F, Koenderman L, Rijkers G, et al. "Trauma: the role of the innate immune system". *World J Emerg Surg.* 2006, 1:15.
84. Hildebrandt KR, Elsberry DD, Hassenbusch SJ. "Stability and compatibility of morphine-clonidine admixtures in an implantable infusion system". *J Pain Symptom Manage* 2003, 25: 464–71.
85. Hildebrandt U, Kessler K, Plusczyk T, Pistorius G, Vollmar B, Menger M. "Comparison of surgical stress between laparoscopic and open colonic resections". *Surg Endosc* 2003, 17:242–246.
86. Hill, A.G., Hill, G.L., "Metabolic response to severe injury". *Br.J. Surg.* 1998, 85: 884–890.
87. Hirota K, Okawa H, Appadu BL, et al. "Interaction of local anaesthetics with recombinant mu, kappa, and delta-opioid receptors expressed in Chinese hamster ovary cells". *Br J Anaesth* 2000, 85:740–6.
88. Hole A. "Per- and postoperative monocyte and lymphocyte functions: effects of combined epidural and general anaesthesia". *Acta Anaesthesiol Scand.* 1984, 28(4):367-71.
89. Holthusen H, Backhaus P, Boeminghaus F. "Preemptive analgesia: no relevant advantage of preoperative compared with postoperative intravenous administration of morphine, ketamine and clonidine in patients undergoing transperitoneal tumor nephrectomy".

Reg Anesth Pain Med 2002, 27: 249–53.

90. Howanitz JH, Howanitz PJ, HENRY JB. “Evaluación de la función endocrina”. En : Henry JB (eds.). Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 9ª Edición. Barcelona. Ediciones científicas y Técnicas, S.A. Masson-Salvat, 1995, 317-359.

91. Howie MB, Hiestand DC, Jopling MW, et al. “Effect of oral clonidine premedication on anesthetic requirement, hormonal response, hemodynamics, and recovery in coronary artery bypass graft surgery patients”. *J Clin Anesth* 1996, 8: 263–72.

92. Jameson P, Desborough JP, Bryant AE, May GM. “The effect of cortisol suppression on the interleukin-6 and white cell responses to surgery”. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 1997, 40: 123-6.

93. Jensen E, Bengtsson A, Berggren H, Ekroth R, Andreasson S. “Clinical variables and pro-inflammatory activation in paediatric heart surgery”. *Scand Cardiovasc J* 2001, 35:201– 6.

94. Jones MO, Pierro A, Hashim IA, Shenkin A, Lloyd DA. “Postoperative changes in resting energy expenditure and interleukin 6 level in infants”. *Br J Surg.* 1994, 81(4):536-8.

95. Julius D, Basbaum AI. “Molecular mechanisms of nociception”. *Nature.* 2001, 13;413(6852):203-10.

96. Kalff JC, Turler A, Schwarz NT, et al. "Intra-abdominal activation of a local inflammatory response within the human muscularis externa during laparotomy". *Ann Surg* 2003, 237: 301–15.
97. Kalso E, Tramer MR, McQuay HJ, Moore RA. "Systemic local anaesthetic-type drugs in chronic pain: a systematic". *Eur J Pain* 1998, 2:3–14.
98. Kanwal JS, Anad K, Aynsley-Green A. "Measurement the severity of surgical stress in newborn infants". *Journal of Pediatric Surgery* 1990, 25:472-478.
99. Kashiwabara M, Miyashita M, Nomura T, Makino H, Matsutani T, Kim C, Takeda S, Yamashita K, Chaudry IH, Tajiri T. "Surgical trauma-induced adrenal insufficiency is associated with postoperative inflammatory responses". *J Nippon Med Sch.* 2007, 74(4):274-83
100. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, Tomihisha T, Okamoto K, Shigematsu A. "Surgical stress induce endotoxin hyporesponsiveness and an early decrease of monocyte mCD14 and HLA-DR expression during surgery". *Anesth. Analg.* 2001, 92(5): 1322-6.
101. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, Okamoto K, Sata T. "Effects of epidural anaesthesia on surgical stress-induced immunosuppression during upper abdominal surgery". *British Journal of Anaesthesia* 2007, 98 (2):196-203.
102. Keel M, Trentz O. "Pathophysiology of polytrauma".

Injury. 2005, 36:691–709.

103. Khelet H. “Manipulation of the metabolic response in clinical practice”. *World J. Surg.* 2000, 24(6): 690-5.

104. Kirno K, Lundin S, Elam M. “Epidural clonidine depresses sympathetic nerve activity in humans by a supraspinal mechanism”. *Anesthesiology* 1993, 78: 1021–7.

105. Kissin I. “Preemptive analgesia”. *Anesthesiology* 2000, 93: 1138–43.

106. Klein HG. “Immunomodulatory aspects of transfusion: a once and future risk?”. *Anesthesiology* 1999, 91:861-865.

107. Koppert W, Weigand M, Neumann F, Sittl R, Schuettler J, Schmelz M, Hering M. “Perioperative intravenous lidocaine has preventive effects on postoperative pain and morphine consumption after major abdominal surgery”. *Anesth Analg* 2004, 98:1050–5.

108. Koppert W, Ostermeier N, Sittl R, et al. “Low-dose lidocaine reduces secondary hyperalgesia by a central mode of action”. *Pain* 2000, 85:217–24.

109. Kotani G, Usami M, Kasahara H, Saitoh Y. “The relationship of IL-6 to hormonal mediators, fuel utilization, and hypermetabolism after surgical trauma”. *Kobe J Med Sci* 1996, 42:187–205.

110. Krieger D T. "Regulation of circadian periodicity of plasma ACTH levels". *New York Academy Science* 1977, 297, 561.

111. Kuo CP, Jao SW, Chen KM, Wong CS, Yeh CC, Sheen MJ, Wu CT. "Comparison of the effects of thoracic epidural analgesia and i.v. infusion with lidocaine on cytokine response, postoperative pain and bowel function in patients undergoing colonic surgery". *Br J Anaesth.* 2006, 97(5):640-6.

112. Kudoh A, Katagai H, Takazawa T, Matsuki A. "Plasma proinflammatory cytokine response to surgical stress in elderly patients". *Cytokine* 2001, 15: 270-273.

113. Lally KP, Cruz E, Xue H. "The role of anti-tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 in protecting murine neonates from Escherichia coli sepsis". *J. Pediatr Surg* 2000, 35:852-855.

114. Lines JG, Loder RE, Millar RA. "Plasma cortisol response during neurosurgical and abdominal operation". *Br J Anesth* 1971, 43:1136-1144.

115. Lykkegaard K, Lauritzen B, Tessem L, Weikop P, Svendsen O. "Local anaesthetics attenuates spinal nociception and HPA-axis activation during experimental laparotomy in pigs". *Res Vet Sci.* 2005, 79(3):245-51. *Epub* 2005 Feb 26.

116. Linn E, Calvano SE, Lowry SF. "Inflammatory cytokines and cell response in surgery". *Surgery* 2000, 127(2):117-126

117. López Candel E. “Valoración multidimensional del dolor preoperatorio en cirugía pediátrica.” Tesis doctoral. Universidad de Granada. 1994.

118. López E, Castejón FJ, Gálvez R, Perán F. “Determinaciones hormonales y test psicoconductuales en la valoración del dolor del niño sometido a intervención quirúrgica”. *Rev. Soc. Esp. Dolor Supl* 1997; 1: 4-11.

119. López García JC. “Determinaciones hormonales y tests psicoconductuales en la valoración del dolor del niño sometido a intervención quirúrgica.” *Tesis Doctoral. Universidad de Granada*. 2001.

120. López García JC, Castejón J, Moreno M, Ramírez A. “Anestesia multimodal infantil: analgesia epidural”. *Rev. Soc. Esp. Dolor* 2004, 11: 420-429.

121. Lu C, Chao P, Borel C, Yang C, Yeh C, Wong C, Wu C.
“Preincisional intravenous pentoxifylline attenuating perioperative cytokine response, reducing morphine consumption, and improving recovery of bowel function in patients undergoing colorectal cancer surgery”.
Anesth Analg 200, ;99:1465–71.

122. Luster MI. “Inflammation, tumor necrosis factor, and toxicology”.
Environ Health Perspect. 1998, 106(9):A418-9.

123. Lykegaard K, Lauritzen B, Tessen L, Weikop P, Svendsen O.

“Local anaesthetics attenuates spinal nociception and HPA-axis activation during experimental laparotomy in pigs”. *Research in Veterinary Science* 2005, 79:245-251

124. Majetschak M, Flach R, Kreuzfelder E, et al. “The extent of traumatic damage determines a graded depression of the endotoxin responsiveness of peripheral blood mononuclear cells from patients with blunt injuries”
Crit Care Med 1999, 27: 313–8.

125. Manglik S, Flores E, Lubarsky L, Fernandez F, Chhibber VL, Tayek JA. “Glucocorticoid insufficiency in patients who present to the hospital with severe sepsis: a prospective clinical trial”. *Crit Care Med.* 2003, 31(6):1868-9.

126. Mantovani G, Macciò A, Pisano M, Versace R, Lai P, Esu S, Massa E, Ghiani M, Dessì D, Melis GB, Del Giacco GS. “Tumor-associated lymphomonocytes from neoplastic effusions are immunologically defective in comparison with patient autologous PBMCs but are capable of releasing high amounts of various cytokines”. *Int J Cancer.* 1997, 71(5):724-31.

127. Marik PE, Zaloga GP. “Adrenal insufficiency during septic shock”.*Crit Care Med.* 2003 Jan;31(1):141-5.

128. Markewitz A, Faist E, Weinhold C, Lang S, Endres S, Hültner L, Reichart B. “Alterations of cell-mediated immune response following cardiac surgery”. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1993, 7(4):193-9.

129. Martin C, Boisson C, Haccoun M, Thomachot L, Mege JL. "Patterns of cytokine evolution (tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6) after septic shock, hemorrhagic shock, and severe trauma". *Crit Care Med.* 1997, 25:1813-1819
130. Martínez-Tellería A, Cano Serrano ME, Martínez-Tellería MJ, Castejón Casado J. "Efficacy of regional anesthesia in pediatric postoperative pain". *Cir Pediatr.* 1997, 10(1):18-20.
131. März P, Cheng JG, Gadiant RA, Patterson PH, Stoyan T, Otten U, Rose-John S. "Sympathetic neurons can produce and respond to interleukin 6". *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998, 95(6):3251-6.
132. Mayers I, Johnson D. "The non specific inflammatory response to injury" *Can J Anaesth* 1998, 45: 871-879.
133. McBride WT, Armstrong MA, McBride SJ. "Immunomodulation: an important concept in modern anaesthesia". *Anaesthesia* 1996, 51:465-473.
134. Menger M, Vollmar B. "Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression?". *Langenbecks Arch Surg* 2004, 389:475-484
135. Moalem G, Tracey D. "Immune and inflammatory mechanism in neuropathic pain". *Brain research review* 2006, 51:240-264.

136. Mohler JL, Michael KA, Freedman AM, Griffen WO Jr, McRoberts JW. "The serum and urinary cortisol response to operative trauma". *Surg Gynecol Obstet* 1985, 161:445–449.

137. Mokart D, Capo C, Blache JL, Delpero JR, Houvenaeghel G, Martin C, Mege JL. "Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer". *Br J Surg* 2002, 89:1450–1456.

138. Molloy RG, Mannick JA, Rodrick ML. "Cytokines, sepsis and immunomodulation. *Br. J. Surg.* 1993, 80:289-297

139. Moore CM, Desborough JP, Powell H, Burrin JM, Hall GM. "Effects of extradural anaesthesia on interleukin-6 and acute phase response to surgery". *Br J Anaesth* 1994, 72(3):272-279

140. Moreno M, Castejón FJ, Palacio MA. "Patient-controlled analgesia with ketorolac in pediatric surgery". *J. Physiol. Biochem.* 2000, 56 (3).

141. Mousa SA, Bopaiah CP, Stein C, Schäfer M. "Involvement of corticotropin-releasing hormone receptor subtypes 1 and 2 in peripheral opioid-mediated inhibition of inflammatory pain". *Pain* 2003, 106(3):297-307

142. Moyer E, Cerra F, Cheiner R, Peters D. "Multiple systems organ failure: VII. "Reduction in plasma branched-chain amino acids--correlations

with liver failure and amino acid infusion". *Journal Traumatology* 1981, 21, 862-869.

143. Murata Y, Onda A, Rydevic B, Takahashi I, Takahashi K, Olmarker K. "Changes in pain behavior and histologic changes caused by application of tumor necrosis factor-alpha to the dorsal root ganglion in rats." *Spine*. 2006, 31(5):530-5.

144. Nagy I, Woolf CJ. "Lignocaine selectively reduces C fibre-evoked neuronal activity in rat spinal cord in vitro by decreasing N-methyl-D-aspartate and neurokinin receptor-mediated post-synaptic depolarizations; implications for the development of novel centrally acting analgesics". *Pain*. 1996, 64(1):59-70.

145. Naito Y, Tamai S, Shingu K, et al. "Responses of plasma adrenocorticotrophic hormone, cortisol, and cytokines during and after upper abdominal surgery". *Anesthesiology* 1992, 77: 426-31.

146. Nakamura M, Suita S, Yamanouchi T, Masumoto K, Ogita K, Taguchi S, Uesugi T. "Cortisol and cytokine responses after surgery in different age groups of pediatric patients". *Pediatr Surg Int* 2003, 19:194-199.

147. Norman JG, Fink GW. "The effect of epidural anesthesia on the neuroendocrine response to major surgical stress: a randomized prospective trial". *Am Surg* 1997, 63: 75-80.

148. Oberholzer A, Souza SM, Tschoeke SK, et al. "Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis". *Shock*. 2005, 23:488–493.
149. Ochoa JB, Ibañez VM, Potau N, Lloret J. "Cortisol response to surgical stress in neonates". *Pediatr Surg Int*. 1988, 2: 267-270.
150. Ogawa K, Hirai M, Katsube T, Murayama M, Hamaguchi K, Shimakawa T, Naritake Y, Hosokawa T, Kajiwara T. "Suppression of cellular immunity by surgical stress". *Surgery* 2000, 127(3):329-336
151. Oka M, Hirazawa K, Yamamoto K, et al. "Induction of Fas-mediated apoptosis on circulating lymphocytes by surgical stress". *Ann Surg* 1996, 223:434-40.
152. Ono S., Mochizuki H. "Cytokine production in surgical stress." *Nippon Geka Gakkai Zasshi*. 2001, 101 (9): 582-7.
153. Opal SM, DePalo VA. "Anti-inflammatory cytokines". *Chest* 2000, 117(4):1162-1172.
154. Opal SM, Huber CE. "The role of interleukin-10 in critical illness". *Curr Opin Infect Dis*. 2000 Jun, 13(3):221-226.
155. Oprée A, Kress M. "Involvement of the proinflammatory cytokines tumor necrosis factor-alpha, IL-1 beta, and IL-6 but not IL-8 in the development of heat hyperalgesia: effects on heat-evoked calcitonin gene-

related peptide release from rat skin". *J Neurosci.* 2000, 20(16):6289-6293.

156. Paddison JS, Booth RJ, Fuchs D, Hill A. "Peritoneal inflammation and fatigue experiences following colorectal surgery: A pilot study". *Psychoneuroendocrinology.* 2008, 33(4):446-54.

157. Page GG. "The immune-suppressive effects of pain". *Adv Exp Med Biol* 2003, 521:117–25.

158. Palacio MA, Castejón J, Gálvez R, García-Sánchez MJ, Vázquez-Alonso, Perán F, Moreno M. "Analgesia controlada por el paciente con ketorolaco en el tratamiento del dolor postoperatorio en cirugía pediátrica". *Rev. Esp. Dolor* 1997, Supl. 1:12-17.

159. Palacio Rodríguez MA, Castejón Casado J, Palop Manjón-Cabeza E, García Sánchez MJ, Sánchez López-Tello C, Moreno M. "Respuesta hormonal con dos técnicas distintas de analgesia postoperatoria en cirugía pediátrica". *Cir Pediatr* 1997, 10:93-95.

160. Pape HC, van Griensven M, Rice J, et al. "Major secondary surgery in blunt trauma patients and perioperative cytokine liberation: determination of the clinical relevance of biochemical markers". *J Trauma.* 2001, 50:989 –1000.

161. Páth G, Scherbaum WA, Bornstein SR. "The role of interleukin-6 in the human adrenal gland". *European Journal of Clinical Investigation* 2000, 30, 91-95.

162. Peña Martínez J. "Inmunología".Ed. Pirámide 1994

163. Perretti M, Ahluwalia A, Flower RJ, Manzini S. "Endogenous tachykinins play a role in IL-1-induced neutrophil accumulation: involvement of NK-1 receptors". *Immunology* 1993, 80: 73-7

164. Phipps RP, Stein SH, Roper RL. "A new view of prostaglandin E regulation of the immune response". *Immunol Today* 1991, 12:349-352.

165. Rainer TH, Beattie T, Crofton P, Sedowofia K, Stephen R, Barklay C, McIntosh N. "Systemic hormonal, electrolite and substrate changes after non-thermal limb injury in children". *Journal Accident Emergency Medicine* 1999, 16: 104-107.

166. Rasmussen S, Sollid J, Knudsen L, Christensen T, Toft E, Tønnesen E. "The release of systemic inflammatory mediators is independent of cardiopulmonary bypass temperature" *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*, 2007, 21(2): 191-196.

167. Re F, Muzio M, De Rossi M, Polentarutti N, Giri JG, Mantovani A, Colotta F. "The type II "receptor" as a decoy target for interleukin 1 in polymorphonuclear leukocytes: characterization of induction by

dexamethasone and ligand binding properties of the released decoy receptor". *J Exp Med* 1994, 179(2):739-743.

168. Redmond HP, Watson RW, Houghton T, Condron C, Watson RG, Bouchier-Hayes D. "Immune function in patients undergoing open vs laparoscopic cholecystectomy". *Arch Surg* 1994, 129:1240-1246.

169. Rittner HL, Stein C. "Involvement of cytokines, chemokines and adhesion molecules in opioid analgesia". *Leukoc Biol* 2005, 78(6):1215-1222.

170. Rivest S. "How circulating cytokines trigger the neural circuits that control the hypothalamic-pituitary-adrenal axis". *Psychoneuroendocrinology* 2001 (8), 761-788.

171. Romeo C, Crucetti A, Turiaco A, Impellizzeri P, Turiaco N, Di Bella C, Merlino MV, Cifala S, Basile M, Gentile C, Salpietro DC. "Monocyte and neutrophil activity after minor surgical stress". *J Pediatr Surg* 2002, 37:741-744.

172. Rosenberg J, Kehlet H. "Surgical physiopathology. New results of importance for optimization of the postoperative course". *Ugeskrift Laeger* 2001, 163:908-912.

173. Rosendahl W, Schulz U, Teufel T, Irtel Von Brenndorf C, Gupta D. "Surgical stress and neuroendocrine responses in infants and children". *Journal pediatrics endocrinology metabolism*. 1995, 8: 187-194.

174. Ruzek MC, Miller AH, Opal SM, Pearce BD, Biron CA. "Characterization of early cytokine responses and an interleukin (IL)-6-dependent pathway of endogenous glucocorticoid induction during murine cytomegalovirus infection". *J Exp Med.* 1997 Apr 7;185(7):1185-1192.

175. Saarenmaa E, Huttunen P, Leppaluoto J, Meretja O, Fellman W. "Advantages of fentanyl over morphine in analgesia for ventilated newborn infants after birth". *Journal Pediatrics* 1999, 134: 144-150.

176. Sachs D, Cunha FQ, Poole S, Ferreira SH. "Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1beta and interleukin-8 induce persistent mechanical nociceptor hypersensitivity". *Pain* 2002; 96: 89-97.

177. Safieh-Garabedian B, Poole S, Allchorne A. "Contribution of interleukin-1 beta to the inflammation-induced increase in nerve growth factor levels and inflammatory hyperalgesia". *Br J Pharmacol* 1995; 115: 1265-75.

178. Saito T, Tazawa K, Yokohama Y, Saito M. Surgir. "Surgical stress inhibits the growth of fibroblasts through the elevation of plasma catecholamine and cortisol concentrations". *Today* 1997, 27: 627-631.

179. Samad TA, Moore KA, Sapirstein A. "Interleukin-1beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity". *Nature* 2001; 410: 471-5.

180. Sandkühler J, Ruscheweyh R. "Opioids and central sensitization: I. preemptive analgesia". *Eur J Pain*, 2004 in press, doi:10.1016/j.e

181. Sarandakou A, Giannaki G, Malamitsi-Puchner A, Rizos D, Hourdaki E, Protonotariou E, Phocas I. "Inflammatory cytokines in newborn infants". *Mediators Inflamm* 1998, 7:309–312.

182. Sasajima K, Onda M, Miyashita M, Nomura T, Makino H, Maruyama H, Matsutani T, Futami R, Ikezaki H, Takeda SH, Takai K, Ogawa R. "Role of L-selectin in the development of ventilator-associated pneumonia in patients after major surgery". *J Surg Res* 2002, 105:123-127.

183. Sasaki N, Kiruchi S, Konno S, Sekiguchi M, Watanabe K. "Anti-TNF-alpha antibody reduces pain-behavioral changes induced by epidural application of nucleus pulposus in a rat model depending on the timing of administration". *Spine* 2007, 32(4)413-416.

184. Sato N, Koeda K, Ikeda K, Kimura Y, Aoki K, Iwaya T, Akiyama Y, Ishida K, Saito K, Endo S. "Randomized study of the benefits of preoperative corticosteroid administration on the postoperative morbidity and cytokine response in patients undergoing surgery for esophageal cancer". *Ann Surg*. 2002, 236(2):184-90

185. Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, Baldwin A. "Role of transcriptional activation of I β -in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science* 1995, 270:283–286.

186. Schinkel C, Gaertner A, Zaspel J, Zedler S, Faist E, Schuermann M. "Inflammatory mediators are altered in the acute phase of posttraumatic complex regional pain syndrome." *Clin J Pain*. 2006, 22(3):235-9.
187. Sheeran P, Hall GM. "Cytokines in anaesthesia". *Br J Anaesth* 1997, 78:201–219.
188. Shenkin A, Fraser WD, Series J, Winstanley FP, McCartney AC, Burns HJ, Van Damme. "The serum interleukin-6 response to elective surgery". *Lymphokine Res* 1989, 8:123–127.
189. Schmeling DJ, Coran AG. "Hormonal and metabolic response to operative stress in the neonate". *JPEN* 1991,15:215–238.
190. Sedowoofia K, Barklay C, Quaba A, Smith A, Stephen R, Thompson M, Watson A, McIntosh N. "The systemic stress response to thermal injury in children". *Clinic Endocrinology Oxford*. 1998, 49:335-341.
191. Simms HH, D'Amico R. "Polymorphonuclear leukocyte dysregulation during the systemic inflammatory response syndrome". *Blood* 1994, 83:1398-1407.
192. Smith EM. "Opioid peptides in immune cells". *Adv Exp Med Biol* 2003, 521:51-68.
193. Standiford TJ. "Anti-inflammatory cytokines and cytokine antagonists".

Anti-inflammatory cytokines and cytokine antagonists.

Curr Pharm Des 2000, 6(6):633-649.

194. Stark GR, Kerr IM, Williams BR, SilvermanRH, Schreiber RD. "How cells respond to interferons". *Annu. Rev.Biochem.* 1998, 67:227–64

195. Steinke J, Borish L. "Cytokines and chemokines". *J Allergy Clin Immunol* 2006, 117:S 441-5.

196. Stubhaug A, Breivik H, Eide PK, et al. "Mapping of punctuate hyperalgesia around a surgical incision demonstrates that ketamine is a powerful suppressor of central sensitization to pain following surgery" *Acta Anaesthesiol Scand* 1997, 41:1124 –32.

197. Suits GS, Bottsford JE. "The metabolic response to trauma." *Research Staff Physiology* 1987, 33: 21-29.

198. Sweed Y, Puri P, Reen D. "Early induction of IL-6 in infants undergoin 4 major abdominal surgery". *J Pediatr Surg* 1992, 27:1033–1037.

199. Tabardel Y, Duchateau J, Schmartz D, Marécaux G, Shahla M, Barvais L, Leclerc JL, Vincent JL. "Corticosteroids increase blood interleukin-10 levels during cardiopulmonary bypass in men". *Surgery.* 1996, 119(1):76-80.

200. Taniguchi K. "Perioperative care for surgical patients with endocrine disorders". *Masui.* 2000, 49 Suppl:S176-87.

201. Tassani P, Barankay A, Haas F, Paek SU, Heilmaier M, Hess J, Lange R, Richter JA. "Cardiac surgery with deep hypothermic circulatory arrest produces less systemic inflammatory response than low-flow cardiopulmonary bypass in newborns". *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002, 123(4):648-54.
202. Tartaglia LA, Goeddel DV. "Two TNF receptors". *Immunol Today* 1992, 13(5):151-153.
203. Thèze J, Alzari PM, Bertoglio J. "Interleukin 2 and its receptors: recent advances and new immunological functions". *Immunol Today.* 1996, 17(10):481-6.
204. Tilg H, Trehu E, Atkins MB, Dinarello CA, Mier JW. "Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55". *Blood* 1994, 83:113-118.
205. Tsang TM, Tam PKH. "Cytokine response of neonate to surgery". *J Pediatr Surg* 1994, 29:794-797.
206. Tschoeke K, Hellmuth M, Hostmann A, Ertel W, Oberholzer A. "The early second hit in trauma management augments the proinflammatory immune response to multiple injuries". *J Trauma* 2007, 62:1396-1404.
207. Tompkins, R.G., "The role of proinflammatory cytokines in inflammatory and metabolic responses". *Ann. Surg.* 1997, 225:243-245.

208. Tønnesen E, Wahlgreen C. "Influence of extradural and general anaesthesia on natural killer cell activity and lymphocyte subpopulations in patients undergoing hysterectomy". *Br J Anaesth.* 1988, 60(5):500-7

209. Vale ML, Marques JB, Moreira CA, Rocha FA, Ferreira SH, Poole S, et al. "Antinociceptive effects of interleukin-4, -10, and -13 on the writhing response in mice and zymosan-induced knee joint incapacitation in rats". *J Pharmacol Exp Ther* 2003, 304:102–8.

210. Valladares y Mendías J C, Alaminos Mingorance M, Castejón Casado J, Moreno Prieto M, Ramírez Navarro A.

"Surgical stress and hypophyseal-adrenal activation in childhood."

Cirugía Pediátrica 2000, 13, 145-149.

211. Volk T, Schenk M, Voigt K, Tohtz S, Putzier M, Kox WJ. "Postoperative epidural anesthesia preserves lymphocyte, but not monocyte, immune function after major spine surgery". *Anesth Analg.* 2004, 98(4):1086-92, *table of contents.*

212. Wakefield CH, Carey PD, Foulds S. "Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery".

Br J Surg 1993, 80: 205–9.

213. Ward Platt MP, Tarbitt MJ, Aynsley-Green A. "The effects of anesthesia and surgery on metabolic homeostasis in infancy and childhood".

Journal of Pediatric Surgery 1990, 25:472-478.

214. Watkins LR, Maier SF, Goehler LE. "Immune activation: the role of proinflammatory cytokines in inflammation, illness responses and pathological pain states". *Pain* 1995, 63, 289-302.

215. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. "Spinal cord glia: new players in pain". *Pain* 2001, 93: 201–5.

216. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. "Glial proinflammatory cytokines mediate exaggerated pain states: implications for clinical pain". *Adv Exp Med Biol* 2003, 521: 1–21.

217. Weinbroum AA, Bender B, Bickels J. "Preoperative and postoperative dextromethorphan provides sustained reduction in postoperative pain and patient-controlled epidural analgesia requirement: a randomized, placebo-controlled, double-blind study in lower-body bone malignancy-operated patients". *Cancer* 2003, 97:2334–40.

218. Weinbroum AA, Rudick V, Paret G, Ben-Abraham R. "The role of dextromethorphan in pain control". *Can J Anaesth.* 2000 Jun, 47(6):585-96.

219. White FA, Bhangoo SK, Millar RJ. "Chemokines: integrators of pain and inflammation." *Nat Rev Drug Discov.* 2005, 4(10):834-44.

220. Wiczorek M, Dunn AJ. "Relationships among the behavioral, noradrenergic, and pituitary-adrenal responses to interleukin-1 and the effects of indomethacin". *Brain Behav Immun* 2006, 20(5):477-487.

221. Woiciechowsky C, Schoning B, Lanksch WR, Volk HD, Docke WD. "Mechanisms of brain-mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression". *J Mol Med* 1999, 77:769-780.

222. Wong CS, Lu CC, Cherng CH, Ho ST. "Pre-emptive analgesia with ketamine, morphine and epidural lidocaine prior to total knee replacement". *Can J Anaesth* 1997, 44:31-7.

223. Wong CS, Wu CT, Yu JC. "Preincisional dextromethorphan decreases postoperative pain and opioid requirement after modified radical mastectomy". *Can J Anaesth* 1999, 46:1122-6.

224. Wu CL, Calwell MD. "Effect of post-operative analgesia on patient morbidity". *Best. Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* 2002, 16 (4):549-563.

225. Wu CT, Jao S, Borel C, Yeh C, Li C, Lu C, Wong C. "The effect of epidural clonidine on perioperative cytokine response, postoperative pain, and bowel function in patients undergoing colorectal surgery". *Anesth Analg* 2004, 99:502-9.

226. Wu CT, Yeh CC, Yu JC. "Pre-incisional epidural ketamine, morphine and bupivacaine combined with epidural and general anaesthesia provides

pre-emptive analgesia for upper abdominal surgery". *Acta Anaesthesiol Scand* 2000, 44:63– 8.

227. Wu CT, Yu JC, Liu ST. "Preincisional dextromethorphan treatment for postoperative pain management after upper abdominal surgery". *World J Surg* 2000, 24:512–7.

228. Wu FP, Sietses C, von Blomberg BM. "Systemic and peritoneal inflammatory response after laparoscopic or conventional colon resection in cancer patients: a prospective, randomized trial". *Dis Colon Rectum* 2003, 46: 147–55.

229. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, Achong MK. "IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses". *J Clin Invest* 1998, 101:311-320.

230. Yao YM, Redl H, Bahrami S. "The inflammatory basis of trauma/shock-associated multiple organ failure". *Inflamm Res.* 1998, 47:201–210.

231. Yeh C, Jao S, Huh B. et al. "Preincisional dextromethorphan combined with thoracic epidural anesthesia and analgesia improves postoperative pain and bowel function in patients undergoing colonic surgery." *Anesth Analog* 2005, 100:1384-9

232. Yorimitsu M, Nishida K, Shimizu A, Doi H, Miyazawa S, Komiyama T, Nasu Y, Yoshida A, Watanabe S, Ozaki T. "Intra-articular injection of interleukin-4 decreases nitric oxide production by chondrocytes and

ameliorates subsequent destruction of cartilage in instability-induced osteoarthritis in rat knee joints". *Osteoarthritis Cartilage*. 2008 Jul, 16(7):764-771

233. Zeevi B, Gil-Ad I, Zabreski R, Berant M, Laron Z, Weizman A, Blieden LC. "Interventional catheterization decreases plasma levels of atrial natriuretic peptide (ANP) in children with congenital heart defects". *Catheterism cardiovascular diagnostic* 1998, 45: 27-32.

234. Ziegenfuss T, Wanner GA, Grass C, Bauer I, Schüder G, Kleinschmidt S, Menger MD, Bauer M.. "Mixed agonistic-antagonistic cytokine response in whole blood from patients undergoing abdominal aortic aneurysm repair". *Intensive Care Med* 1999, 25(3):279-287.