



UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

IMPACTO SOCIO-ECONÓMICO DE LAS LESIONES ENCEFÁLICAS DE LAS SEPSIS Y ESTUDIO EXPERIMENTAL.

TESIS DOCTORAL

Autor: ENRIQUE MÁRMOL PEIS

Director: Rafael Guisado Barrilao

Granada, 2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Enrique Mármol Peis
ISBN: 978-84-1117-599-9
URI: <https://hdl.handle.net/10481/78026>

“A mi amor, a mis hijos, y especialmente a mis padres.
Siempre confiaron en mí”.

“Como no estas experimentado en cosas del mundo, todas las cosas que tienen algo de dificultad te parecen imposibles”

Miguel de Cervantes. El Quijote

“La torre del faro fue siempre un refugio afortunado que él evocaba con nostalgia cuando ya tenía todo resuelto en los albores de la vejez, porque era un sitio bueno para ser feliz, sobre todo de noche, y pensaba que algo de sus amores de aquella época les llegaba a los navegantes en cada vuelta de los destellos.”

Gabriel García Márquez. El amor en los tiempos del cólera

Agradecimientos

Este trabajo forma parte de un amplio grupo de proyectos que tienen como fin investigar las lesiones oxidativas que se producen en la sepsis grave.

Quiero agradecer en primer lugar a mi familia.

A mis padres que me lo dieron todo y sin pedir nada a cambio. Su esfuerzo y ejemplo me sirven para luchar cada día e intentar ser mejor persona.

A mis hijos. Que son un ejemplo de superación en momentos difíciles y son la fuente de mi inspiración. Ojalá que la vida os depare un futuro mejor.

A mi compañera de hoy y de siempre. Por tu lealtad y por brindarme la confianza que necesité en momentos difíciles. Gracias por tu comprensión cariño y amor.

A mis hermanos Jose, Javier y Gema. Somos una familia en la que siempre he encontrado el apoyo para cada cosa, en cualquier momento y sin límite. Vuestras palabras de aliento han sido la energía que necesité.

Al Profesor Dr. D Rafael Guisado Barrilao, maestro, amigo y director de ésta tesis. Nada de esto habría sido posible sin él. Por tu continuo apoyo. Siempre confiaste en la llegada a buen término de éste proyecto.

A mis amigos y compañeros.

Y a todos aquellos que me prestaron su saber

I. FUNDAMENTO TEÓRICO.	pag 12
1. ACTUALIDAD DE LA SEPSIS Y SHOCK SÉPTICO	pag 12
1.1. INTRODUCCIÓN	pag 12
1.1.1. Sepsis	pag 21
1.1.2. Disfunción o insuficiencia orgánica	pag 21
1.1.3. Shock Séptico	pag 22
1.1.4 .Nueva Definición de sepsis	pag 22
1.1.5. Criterios clínicos para identificar a los pacientes con sepsis	pag 23
1.1.6. Pesquisa de los pacientes con probable sepsis	pag 26
1.1.7 Nueva Definición de shock séptico	pag 28
1.1.8. Criterios clínicos para identificar el shock séptico	pag 28
1.1.9. Controversias y limitaciones	pag 32
1.1.10. Consecuencias	pag 34
1.1.11. Conclusiones	pag 35
1.2. EPIDEMIOLOGÍA	pag 36
1.2.1. Epidemiología de la sepsis en las unidades de cuidados intensivos en España y Europa	pag 40
1.2.2. La calidad y la seguridad de la medicina intensiva en España	pag 54
1.3. ETIOLOGÍA	pag 64
1.3.1. Bacteriemia adquirida en la comunidad	pag 65
1.3.2. Bacteriemia asociada a cuidados sanitarios	pag 66
1.3.3. Bacteriemia nosocomial	pag 66
1.3.4. Bacteriemia en pacientes ingresados en cuidados intensivos.	pag 67
1.3.5. Bacteriemia en pacientes con catéter vascular	pag 68
1.3.6. Bacteriemia en pacientes quirúrgicos	pag 68
1.3.7. Bacteriemia en p. cáncer y neutropenia post-quimioterapia	pag 69
1.3.8. Bacteriemia en grandes quemados	pag 69
1.3.9. Bacteriemias en pacientes en hemodiálisis periódica	pag 70

1.3.10. Bacteriemias en receptores de trasplante de órgano sólido y de progenitores hematopoyéticos	pag 70
1.3.11. Bacteriemias en pacientes con infección por el VIH	pag 71
1.4. FISIOPATOLOGÍA DEL SHOCK SÉPTICO.	pag 72
1.4.1. Fisiopatología	pag 72
1.4.2. Citocinas anti-inflamatorias	pag 79
1.4.2.1. Interleucina -10 (IL-10)	pag 79
1.4.2.2. Interleucina -6 (IL-6)	pag 80
1.4.2.3. Factor Beta transformante del crecimiento (FβTC)	pag 81
1.4.2.4. Interleucina-4 (IL-4)	pag 81
1.4.2.5. Interleucina -13 (IL-13)	pag 82
1.4.2.6. F. estimulante colonia granulocitos /macrófagos. (FEC-GM)	pag 82
1.4.3. Interacciones entre componentes de la pared celular bacteriana y el sistema humoral de defensa.	pag 84
1.4.4. Papel del sistema celular de defensa.	pag 87
1.4.4.1. Monocitos	pag 87
1.4.4.2. PMN.	pag 89
1.4.4.3. Células endoteliales.	pag 89
1.4.5. Otros mediadores producidos por células activadas.	pag 90
1.4.6. Alteraciones hemodinámicas.	pag 92
1.4.7. Metabolismo del oxígeno.	pag 94
1.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.	pag 96
1.5.1. Cuadro clínico.	pag 96
1.5.2. Pruebas complementarias.	pag 99
1.5.3. Repercusiones en el ámbito cerebral: encefalopatía séptica.	pag 101
1.5.3.1. -Fisiopatología de la encefalopatía séptica.	pag 101

1.6. PRINCIPIOS GENERALES DEL DIAGNÓSTICO.	pag 107
1.7. RECOMENDACIONES GENERALES DE TRATAMIENTO.	pag 110
1.7.1. Tratamiento sintomático	pag 111
1.7.1.1. Fluidoterapia	pag 111
1.7.1.2. Fármacos vasoactivos y presores	pag 113
1.7.2. Tratamiento fisiopatológico	pag 117
1.7.2.1. Actuación sobre la inflamación.	pag 117
1.7.2.2. Actuación sobre la coagulación.	pag 118
1.7.2.3. Actuación sobre la glucemia.	pag 119
1.7.2.4. Actuación sobre la Insuficiencia renal aguda (depuración extrarrenal).	pag 119
1.7.2.5. Plasmaféresis	pag 120
1.7.3. Tratamiento etiológico	pag 120
2. RADICALES LIBRES	pag 124
2.1. INTRODUCCIÓN	pag 124
2.1.1. Óxido Nítrico.	pag 124
2.1.1.1. -Bases bioquímicas	pag 125
2.1.1.2. -Funciones fisiológicas del NO en el ser humano	pag 127
2.2. -OTROS RADICALES LIBRES	pag 129
2.2.1. -Anión superóxido.	pag 131
2.2.2.-Peróxido de hidrógeno.	pag 132
2.2.3.-Radical hidroxilo	pag 133
2.3.-FUENTES DE RADICALES LIBRES.	pag 134
2.4.- CONTROL DE LOS RADICALES LIBRES.	pag 135

2.5.-LESIONES MEDIADAS POR RADICALES LIBRES DE OXÍGENO.	pag 136
2.6.-MONITORIZACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO.	pag 137
3.-MELATONINA	pag 140
3.1.-ACCIONES DE LA MELATONINA	pag 141
3.2. CONSUMO DE MELATONINA	pag 145
4.- LA METIONINA.	pag 148
5.-OBJETIVOS.	pag 150
6.-UTILIDAD CLÍNICA.	pag 150
7.- ASPECTOS ÉTICOS, SOCIOLÓGICOS Y ECONÓMICOS DE LA SEPSIS	pag 151
II. MATERIAL Y MÉTODOS	pag 164
1.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.	pag 164
2.-ALEATORIZACIÓN.	pag 164
3.-PROTOCOLO EXPERIMENTAL.	pag 165
4.-SEGUIMIENTO DE LOS ANIMALES.	pag 167
5.-PROCEDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE MUESTRAS.	pag 168
6.- RESULTADOS	pag 168
6.1-DETERMINACIONES REALIZADAS EN LAS MUESTRAS DE CEREBRO.	pag 168
6.2-TABLAS DE RESULTADOS	pag 170
6.2.1-GRUPO CONTROL. Ratas sanas sin intervención ni sepsis	pag 170
6.2.2-GRUPO INTERVENCIÓN. Ratas con punción de ciego y sin tratamiento alguno.	pag 170
6.2.3-GRUPO METIONINA. Ratas con punción de ciego y cinco semanas de dieta rica en metionina.	pag 171
6.2.4-GRUPO MELATIONINA. Ratas con punción de ciego	

y Melatonina.	pag 172
6.2.5-GRUPO Metionina + Melatonina. Ratas con punción de ciego y con ambos tratamientos.	pag 173
7.-ESTUDIO ESTADÍSTICO:	pag 173
III. DURACIÓN	pag 183
3.1.-Modelo experimental:	pag 183
3.1.1.-Animal de experimentación.	pag 183
3.1.2.-Técnica experimental.	pag 183
3.2.-Peroxidación lipídica: MDA + 4HDA.	pag 185
IV. DISCUSIÓN	
4.1. Modelo experimental.	pag 189
4.2. Evolución clínica de los animales.	pag 191
4.3. Descenso de antioxidante y aumento de radicales libres en la sepsis.	pag 189
V. RESULTADOS.	pag 197
VI. RESUMEN.	pag 201
VII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	pag 204
VIII. CONCLUSIONES	pag 206
Anexo I Tablas y Cuados	pag 208
BIBLIOGRAFÍA	PAG 210

FUNDAMENTO TEÓRICO

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

1. ACTUALIDAD DE LA SEPSIS Y SHOCK SÉPTICO

1.1. INTRODUCCIÓN:

La sepsis y el shock séptico son dos grandes problemas de asistencia sanitaria que afectan a millones de personas en todo el mundo cada año. Al menos una de cada cuatro personas muere a causa de sepsis o shock séptico y la incidencia de ambos es cada vez más acuciante.¹. Es similar al politraumatismo, el Infarto agudo de miocardio o el accidente cerebrovascular y la velocidad y la precisión del tratamiento administrado en las horas iniciales, después del desarrollo de la sepsis, influyen en el desarrollo del desenlace. Por esto mismo, actualmente hay una campaña de supervivencia a la sepsis (suiving sepsis campaign) que trata de establecer recomendaciones de diagnóstico precoz y de tratamiento con el objetivo de aumentar la supervivencia.

Históricamente, el problema representa una lucha continua por la supervivencia. El término *σήψις* (sepsis)² fue introducido en medicina por Hipócrates en el siglo IV antes de Cristo para aludir al proceso de descomposición de la materia orgánica². En el siglo XI Avicena utilizaba el término "pudrición de la sangre" para referirse a las enfermedades vinculadas con procesos purulentos importantes. Aunque ya se habían observado casos de toxicidad sistémica grave, el término específico para esa enfermedad —sepsis— recién comenzó a utilizarse en el siglo XIX. Hacia fines de ese siglo se creía que los microbios producían sustancias que podían enfermar al mamífero huésped y que las toxinas solubles liberadas durante la infección causaban la fiebre y el *shock* séptico comunes durante las infecciones graves. A comienzos del siglo XX Pfeiffer acuñó el término endotoxina para denotar el principio pirógeno asociado con *Vibrio cholerae* y, muy pronto, se supo que las endotoxinas eran expresadas por la mayor parte (o quizá por todas) las bacterias gramnegativas. El carácter de endotoxinas entéricas de los lipopolisacáridos fue dilucidado

en 1944 por Shear y en 1973 Luderitz y su grupo determinaron la naturaleza molecular de ese material.³

Según otros autores, Hipócrates consideraba que la sepsis, uno de los síndromes más antiguos y elusivos de la medicina, es el proceso por el cual se pudre la carne, los pantanos generan aire contaminado y las heridas supuran. Tiempo después Galeno la consideró un evento loable y necesario para la cicatrización de las heridas⁴ Con la confirmación de la teoría de los gérmenes por Semmelweis, Pasteur y otros científicos la sepsis se redefinió como una infección sistémica que a menudo se describía como "envenenamiento de la sangre" y se suponía que era el resultado de la invasión del huésped por microorganismos patógenos que luego se extendían por el torrente sanguíneo⁴ . Sin embargo, con el advenimiento de los antibióticos modernos la teoría de los gérmenes pasó a ser una explicación incompleta de la patogenia de la sepsis dado que muchos pacientes con esa enfermedad morían pese a la erradicación del agente causal. Por lo tanto, los investigadores sugirieron la posibilidad de que el determinante de la patogenia fuera el huésped, no el germen⁶ .

Los términos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), sepsis y Shock Séptico se definieron por primera vez en la conferencia de consenso de la American College of Chest Physicians/ Society of Critical Care Medicine publicados en 1992. En 2001 una segunda reunión internacional trató de mejorar estas definiciones y finalmente en 2016 se publican las definiciones actuales⁶.

La conferencia de consenso de 1991 publicó las definiciones iniciales según los conocimientos de esa época, en que se veía a la sepsis como resultado del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) del huésped a la infección que se manifestó por los siguientes signos clínicos:

- ✓ Taquipnea (> 20 rpm) o $PCO_2 < 32$ mmHg.
- ✓ Taquicardia (> 90 lpm).
- ✓ Hipertermia o hipotermia ($> 38^\circ C$ o $< 36^\circ C$).
- ✓ Leucocitos $> 12.000/mm$ o $< 4.000/mm$ o fórmula $> 10\%$ formas inmaduras.

Su objetivo era poder agrupar un conjunto de parámetros cénicos que permitieran de una forma sencilla, la identificación precoz de aquellos pacientes que cumplieran unos criterios para entrar en investigaciones y fuesen tratados de forma precoz⁶ .

Lo más importante de esas definiciones fue el empleo por primera vez del SIRS.

Cuando el SIRS es debido a una infección (sospechada o confirmada) se habla de sepsis.

La sepsis complicada por disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión era la sepsis grave, que podía progresar a shock séptico, definido como "hipotensión inducida por sepsis que persiste a pesar de la reanimación adecuada con líquidos."

Un grupo de trabajo reunido en 2001⁷, reconociendo las limitaciones de estas definiciones, amplió el listado de criterios diagnósticos de sepsis. Los participantes en la conferencia de consenso concluyeron que, aunque la clasificación de sepsis, sepsis grave y shock séptico no permite un estadiaje preciso de la respuesta del huésped a la infección, se sigue considerando útil y válida; del mismo modo, se recomienda mantener el concepto de SRIS, aun reconociendo su escasa especificidad. A este respecto, los autores de la conferencia de consenso presentan una lista ampliada de signos y síntomas de sepsis, que denominan "criterios diagnósticos de sepsis", que en realidad no es más que un agregado no exhaustivo de datos sugestivos de infección, respuesta inflamatoria y disfunción de órganos, de sensibilidad y especificidad desconocidos, que los propios autores reconocen como arbitrarios, y cuyo esquema clasificatorio parece también dudoso

- ✓ Alteración aguda del estado mental (agitación, confusión, obnubilación).
- ✓ Hipoxemia ($PO_2 < 75$ mmHg), no atribuible a otra enfermedad.
- ✓ Ácido láctico elevado en sangre (> 2 mmol/L).
- ✓ Oligoanuria (diuresis < 0.5 mL/kg de peso/hora).
- ✓ Creatinina > 2 mg/dl
- ✓ Alteraciones de la coagulación (INR > 1.5 /TTPA > 60 segundos).
- ✓ Trombocitopenia (plaquetas < 100.000)
- ✓ Hiperbilirrubinemia (BiT > 2 mg/dl).

Agrupados estos conceptos se definió sepsis cuando cumplía alguno de los siguientes conceptos:

Infección, sospechada o documentada, y "algunos" de los siguientes:

Parámetros generales: fiebre, hipotermia, taquicardia, taquipnea, alteración del estado mental, aparición de edemas o balance hídrico positivo, hiperglucemia.

Parámetros inflamatorios: leucocitosis, leucopenia, desviación izquierda, elevación de proteína C activada, elevación de procalcitonina.

Parámetros hemodinámicos: hipotensión arterial, desaturación venosa mixta de oxígeno, índice cardiaco elevado, parámetros de disfunción de órganos, hipoxemia arterial, oliguria aguda, aumento de creatinina sérica, prolongación de tiempos de coagulación (INR, TPT), trombopenia, íleo, hiperbilirrubinemia.

Parámetros de perfusión tisular: hiperlactacidemia, relleno capilar lento, livideces

Un nuevo fallo en el control de la contrarregulación conduce al denominado **shock séptico** en el cual predomina la hipoperfusión generalizada y la hipotensión arterial (TA

sistólica < 90 mmHg o una disminución > 40 mmHg respecto a la basal, en ausencia de hipovolemia o fallo de bomba cardiaca) inducida por la sepsis y que persiste a pesar de un adecuado aporte de líquidos.

Cuando en la evolución del shock séptico se asocian signos de **insuficiencia orgánica múltiple**, hablamos de **fracaso multiorgánico**, pudiendo aparecer:

- ✓ Síndrome de distrés respiratorio del adulto.
- ✓ Alteraciones de la función hepatobiliar.
- ✓ Disfunción del SNC pudiendo llegar al coma.
- ✓ CID
- ✓ Insuficiencia renal aguda.

En su deseo de aportar algo novedoso, los participantes en la conferencia de consenso de 2001 presentaron un esquema de clasificación para la sepsis, análogo al sistema TNM de clasificación de los tumores, al que denominan "PIRO", esquema que no desarrollan y del que reconocen que es "rudimentario", que consta de cuatro elementos

(tabla I):

Tabla I: Esquema "PIRO". Conferencia de consenso 2001

- **P:** de factores **P**redisponentes (comorbilidades y factores genéticos)
- **I:** de **I**nfección (foco, microorganismo y extensión)
- **R:** de **R**espuesta del huésped (mediadores y marcadores biológicos)
- **O:** de disfunción de **Ó**rganos

El sistema se presenta como una plantilla para la investigación futura y como un modelo en desarrollo más que como un producto acabado, y aún no se ha desarrollado ninguna aplicación práctica a partir del mismo. De hecho, sin discutir la validez conceptual del esquema, el sistema PIRO no ha logrado aceptación dentro del colectivo médico.

Lo más importante de estas definiciones fue que en 2002 se inició la campaña "Surviving Sepsis Campaign" con ediciones posteriores en 2012 y 2013⁷ que están vigentes en la actualidad.

Por último en 2014⁶ Las sociedades Europea y Americana de Cuidados Intensivos, European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) y Society of Critical Care Medicine (SCCM), convocaron a un grupo de trabajo, compuesto por 19 especialistas en patobiología, ensayos clínicos y epidemiología de la sepsis, recomendaron que la sepsis se debe definir como una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección.

En ésta nueva definición destaca la primacía de la respuesta no homeostática del huésped a la infección, la posible letalidad que excede considerablemente a la de una infección común y a la necesidad de un diagnóstico precoz.

La disfunción orgánica se puede representar por el aumento de dos puntos o más en la puntuación (SOFA), que se asocia con una mortalidad intrahospitalaria mayor del 10%. El shock séptico se debe definir como un Subgrupo de sepsis en el que profundas alteraciones circulatorias, celulares y metabólicas se asocian con mayor riesgo de mortalidad que la sepsis sola. Los pacientes con shock séptico necesitan vasopresores para mantener una presión arterial media de 65 mm Hg o más y cifras de lactato mayores de 2 mmol/l (>18mg/dl) en ausencia de hipovolemia⁷.

La sepsis es un síndrome de alteraciones fisiológicas, patológicas y bioquímicas inducidas por una infección, cuya incidencia está en aumento. Es asimismo una de las

principales causas de enfermedad grave y de mortalidad en todo el mundo. Los pacientes que sobreviven a la sepsis con frecuencia sufren problemas físicos, psicológicos y cognitivos prolongados.

Una conferencia de consenso creó en 1991 las definiciones iniciales según los conocimientos de esa época, en que se veía a la sepsis como resultado del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) del huésped a la infección **(Cuadro 1)**

Cuadro 1. SRIS (Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica)

Dos o más de los siguientes:

- Temperatura $>38^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$
- Frecuencia cardíaca $>90/\text{min}$
- Frecuencia respiratoria $>20/\text{min}$ o $\text{PaCO}_2 <32\text{mm Hg}$ (4,3 kPa)
- Cifras de leucocitos $>12000/\text{mm}^3$ o $<4000/\text{mm}^3$ o $>10\%$ células en cayado

De Bone et al.

La sepsis complicada por disfunción orgánica era la sepsis grave, que podía progresar a shock séptico, definido como "hipotensión inducida por sepsis que persiste a pesar de la reanimación adecuada con líquidos."

La European Society of Intensive Care Medicine y the Society of Critical Care Medicine convocaron a un grupo de trabajo de 19 especialistas en patobiología, estudios clínicos y epidemiología de la sepsis. Las definiciones y los criterios clínicos se generaron entre enero de 2014 y enero de 2015 a través de reuniones, procesos Delphi, análisis de bases de datos y votaciones.

El proceso de consenso se basó sobre los conocimientos actuales de los cambios inducidos por la sepsis en la función orgánica, la morfología, la biología celular, la

bioquímica, la inmunología y la circulación (en conjunto denominados patobiología). Se acordó sobre definiciones actualizadas y sobre los criterios a ser puestos a prueba en la clínica (validez del contenido).

Posteriormente se pusieron a prueba la concordancia entre los posibles criterios clínicos (validez del constructo) y la capacidad de los criterios para pronosticar los resultados típicos de la sepsis, como la necesidad de ingreso a la unidad de cuidados intensivos (UCI) o la muerte (validez pronóstica). Estas exploraciones se efectuaron en múltiples bases de datos que también estudiaron la ausencia de elementos de diferentes puntuaciones de disfunción orgánica y la cuestión de la posibilidad de generalización (validez ecológica). Se efectuó asimismo una revisión sistemática de la literatura médica sobre la temática.

Una vez compiladas, las recomendaciones del grupo de trabajo, junto con la evidencia que las apoyaba, se enviaron a las principales sociedades internacionales y otras instituciones pertinentes para su revisión externa por expertos y su aprobación.

El grupo de trabajo intentó diferenciar la sepsis de la infección sin complicaciones y de actualizar las definiciones de sepsis y de shock séptico según los nuevos conocimientos de la patobiología.

El grupo reconoció que la sepsis es un síndrome hasta ahora sin una prueba diagnóstica estándar con un criterio validado. Determinó asimismo la importante necesidad de características que se puedan identificar y medir en cada paciente e intentó proporcionar estos criterios para ofrecer uniformidad. Además estos criterios deberían estar disponibles para que los médicos en ámbitos extrahospitalarios, en el servicio de urgencias y las salas del hospital puedan identificar mejor a los pacientes con presunta infección. El diagnóstico temprano es especialmente importante porque el tratamiento rápido de los pacientes sépticos puede mejorar los resultados. Se planteó además la

evaluación de la validez de las definiciones cuando no hay una prueba diagnóstica de referencia

La sepsis no es una enfermedad específica, sino un síndrome que abarca una patobiología que aún es incierta.

Hasta ahora, se la puede identificar por una constelación de signos y síntomas en un paciente con presunta infección. Debido a la ausencia de una prueba diagnóstica de referencia, el grupo de trabajo buscó definiciones y criterios clínicos claros que fueran útiles y válidos.

La sepsis es una respuesta multifacética del huésped a un agente infectante que puede ser ampliada significativamente por factores endógenos. La conceptualización original de la sepsis como una infección con al menos 2 de los 4 criterios SRIS se centraba únicamente en la inflamación excesiva. No obstante, ahora se reconoce que la sepsis implica la activación precoz de ambas respuestas, la pro y la antiinflamatoria, junto con modificaciones importantes en las vías no inmunológicas, como la cardiovascular, neuronal, neurovegetativa, hormonal, bioenergética, metabólica y de la coagulación.

La perspectiva más amplia también hace hincapié en la significativa heterogeneidad biológica y clínica de los pacientes, en quienes la edad, la enfermedad y las lesiones concomitantes (incluida la cirugía), los medicamentos y la fuente de infección aumentan la complejidad. Con mayor validación, las firmas moleculares de múltiples canales podrían mejorar la caracterización de subgrupos específicos de la población. Estas firmas también pueden contribuir a diferenciar la sepsis de agresiones no infecciosas, como los traumatismos o la pancreatitis, en las que factores endógenos puede desencadenar una respuesta biológica y clínica similar del huésped.

El mejor conocimiento de la patobiología subyacente se acompañó por el reconocimiento de que muchos de los términos (por ejemplo: sepsis, sepsis grave) se

emplean de manera intercambiable, mientras que otros son redundantes (síndrome de sepsis) o demasiado rigurosos (por ejemplo, septicemia).

1.1.1. Sepsis

El grupo de tareas consideró poco útil el empleo actual de 2 o más criterios SRIS para identificar la sepsis, ya que no necesariamente indican una respuesta desregulada, potencialmente mortal. Estos criterios están presentes en muchos pacientes hospitalizados, incluidos aquellos que nunca sufren infección ni mala evolución (poca validez discriminante).

Además, 1 de cada 8 pacientes ingresados a UCI en Australia y Nueva Zelanda con infección e insuficiencia orgánica reciente no tenían el mínimo de 2 criterios SRIS exigidos para la definición de sepsis (mala validez convergente) y sin embargo sufrieron un curso prolongado con morbilidad significativa⁸.

La validez discriminante y la validez convergente constituyen las dos esferas de la validez del constructo; los criterios SRIS no son útiles para ninguna de las dos.

1.1.2. Disfunción o insuficiencia orgánica

El grupo de trabajo reconoció que ninguna medición clínica actual refleja el concepto de una respuesta anormal del huésped, pero muchos datos del examen físico y de los análisis habituales indican inflamación o disfunción orgánica. Por lo tanto evaluó qué criterios médicos identificaban mejor a los pacientes infectados con más probabilidad de sufrir sepsis⁹.

La puntuación más empleada en las UCIs para medir la gravedad de la disfunción orgánica es la Sequential Organ Failure Assessment (SOFA). Además es un marcador pronóstico porque cuanto mayor es la puntuación SOFA, mayor será la probabilidad de mortalidad. Se califica la alteración de cada sistema orgánico, pero también son necesarias

variables de exámenes complementarios, como la PaO₂, la cifra de plaquetas, la creatinina y la bilirrubina.

El grupo de trabajo recomienda utilizar un cambio en la puntuación inicial del SOFA de dos o más puntos, para definir disfunción orgánica. Los pacientes con una puntuación del SOFA de dos o más puntos, tuvieron un riesgo de mortalidad de aproximadamente un 10% en una población hospitalaria general con una presunta infección. Según el nivel individual de riesgo de cada paciente, una puntuación de SOFA de dos o más puntos, identificó un aumento de 2 a 25 veces el riesgo de muerte en relación a los pacientes con una puntuación de SOFA menor a 2.

1.1.3. Shock Séptico

Múltiples definiciones de shock séptico están en uso. Una revisión sistemática destaca la significativa heterogeneidad en los informes sobre la mortalidad, producida por las diferencias en las variables clínicas elegidas (distintos puntos de corte para la presión arterial \pm diversos niveles de hiperlactatemia \pm empleo de vasopresores \pm nueva disfunción orgánica \pm definición del volumen y los objetivos de la reanimación con líquidos), la fuente de los datos y los métodos de codificación.

1.1.4 Nueva Definición de sepsis

Necesidad de definiciones de sepsis para el público y para el sistema de salud

A pesar de su importancia en todo el mundo, el conocimiento de la población general sobre la sepsis es escaso. Además, las diversas manifestaciones de la sepsis dificultan el diagnóstico. Por ello, la población necesita una definición entendible de sepsis, mientras que los médicos necesitan mejores enfoques diagnósticos para facilitar la identificación más precoz de la sepsis.

La **sepsis** es una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección.

Esta nueva definición destaca la primacía de la respuesta no homeostática del huésped a la infección, la posible letalidad que excede considerablemente la de una infección común y la necesidad de un diagnóstico precoz.

Los criterios inespecíficos SRIS como: fiebre o neutrofilia seguirán contribuyendo al diagnóstico general de infección. Estos datos complementan las características de infecciones específicas (por ejemplo exantema, consolidación pulmonar, disuria, peritonitis) que indican el posible origen anatómico y el microorganismo infectante. Sin embargo, el SRIS puede reflejar simplemente la respuesta apropiada del huésped, que con frecuencia es adaptativa. La sepsis implica disfunción orgánica, lo que indica una patobiología más compleja que solamente la infección con la respuesta inflamatoria que la acompaña.

Bajo esta terminología, el término "sepsis grave" es superfluo.

1.1.5. Criterios clínicos para identificar a los pacientes con sepsis

El grupo de trabajo reconoció que ninguna medición clínica actual refleja el concepto de una respuesta desregulada del huésped, pero muchos datos del examen físico y de los análisis habituales indican inflamación o disfunción orgánica. Por lo tanto evaluó qué criterios médicos identificaban mejor a los pacientes infectados con más probabilidades de sufrir sepsis. Este objetivo se logró investigando a grandes grupos de pacientes hospitalizados con presunta infección para evaluar si había acuerdo entre las puntuaciones de inflamación (SRIS) o la disfunción orgánica (por ejemplo, SOFA, Logistic Organ Dysfunction System) (validez del constructo) y definiendo su relación con los resultados ulteriores (validez pronóstica) ⁶.

Se estudiaron las historias clínicas electrónicas de 1,3 millones de personas en 12 hospitales de Pennsylvania, EEUU. De estos, 148 907 pacientes sufrían presunta infección, que eran aquellos en los que se obtuvieron cultivos y que recibieron antibióticos.

Dos parámetros— la mortalidad intrahospitalaria y la mortalidad, la internación en la UCI durante 3 días o más o ambas—se emplearon para evaluar la validez predictiva. Para los pacientes infectados dentro y fuera de la UCI, la validez pronóstica se determinó con dos mediciones para cada criterio: el área bajo la curva de eficacia diagnóstica (AUROC) y el cambio en los parámetros comparando los pacientes con una puntuación de 2 puntos o más o con los que tenían menos de 2 puntos en los diferentes sistemas de puntuación. Estos criterios también se analizaron en otros conjuntos de datos de más de 700 000 pacientes fuera de la UCI, con infección extrahospitalaria e intrahospitalaria.

En los pacientes de Pennsylvania con presunta infección, la discriminación para la mortalidad intrahospitalaria con SOFA y el Logistic Organ Dysfunction System fue superior a la de aquella con el SRIS. La validez pronóstica de un cambio en la puntuación SOFA de 2 o mayor fue similar. Para los pacientes fuera de la UCI y con presunta infección, la discriminación de la mortalidad intrahospitalaria con SOFA o el cambio en la puntuación SOFA fue similar al del SRIS ⁶.

Debido a que SOFA es más conocido y más sencillo que el Logistic Organ Dysfunction System, el grupo de trabajo recomienda emplear un cambio en la puntuación SOFA inicial de 2 puntos o más para representar la disfunción orgánica. La puntuación SOFA inicial se presume que es cero a menos que se sepa que el paciente sufre disfunción orgánica (aguda o crónica) antes del inicio de la infección⁶.

El sistema SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) se creó en una reunión de consenso de la European Society of Intensive Care Medicine en 1994 y nuevamente revisado en 1996. El SOFA es un sistema de medición diaria de fallo orgánico múltiple de

seis disfunciones orgánicas. Cada órgano se clasifica de 0 (normal) a 4 (el más anormal), proporcionando una puntuación diaria de 0 a 24 puntos. El objetivo en el desarrollo del SOFA era crear un score simple, confiable y continuo, y fácilmente obtenido en cada institución (**Tabla II**)

El SOFA durante los primeros días de ingreso en la UCI es un buen indicador de pronóstico. Tanto la media, como el score más alto son predictores particularmente útiles de resultados. Independiente de la puntuación inicial, un aumento en la puntuación SOFA durante las primeras 48 horas en la UCI predice una tasa de mortalidad de al menos el 50%.

Tabla II. Score SOFA

Score SOFA	0	1	2	3	4
Respiración^a					
PaO ₂ /FIO ₂ (mm Hg)	>400	<400	<300	<200	<100
SaO ₂ /FIO ₂		221–301	142–220	67–141	<67
Coagulación					
Plaquetas 10 ³ /mm ³	>150	<150	<100	<50	<20
Hígado					
Bilirubina (mg/dL)	<1.2	1.2–1.9	2.0–5.9	6.0–11.9	>12.0
Cardiovascular^b					
Hipotensión	No hipotensión	PAM <70	Dopamina ≤5 o dobutamina (cualquiera)	Dopamina >5 o norepinefrina ≤0.1	Dopamina >15 o norepinefrina >0.1
SNC					
Score Glasgow	15	13–14	10–12	6–9	<6

Renal					3.5–4.9 or	>5.0 or
Creatinina	(mg/dL)	<1.2	1.2–1.9	2.0–3.4		
o flujo urinario	(mL/d)				<500	<200

PAM, presión arterial media; SNC, sistema nervioso central; SaO₂, Saturación arterial de oxígeno periférico. ^aPaO₂/FIO₂ relación utilizada preferentemente. Si no es disponible, la SaO₂/FIO₂ es usada; ^bmedicamentos vasoactivos administrados por al menos 1 hora (dopamina y norepinefrina ug/kg/min).

Los pacientes con puntuación SOFA de 2 o más tuvieron un riesgo de mortalidad de aproximadamente el 10% en una población hospitalaria general con presunta infección. Según el nivel inicial de riesgo de cada paciente, una puntuación SOFA de 2 o mayor identificó un aumento de 2 a 25 veces del riesgo de muerte en relación con pacientes con puntuación SOFA menor de 2.

La puntuación SOFA no se debe emplear como herramienta terapéutica, sino como medio para caracterizar clínicamente al paciente séptico. Varios biomarcadores nuevos pueden identificar la disfunción renal y hepática o la coagulopatía antes que los elementos empleados en SOFA, pero aún necesitan mayor validación.

1.1.6. Pesquisa de los pacientes con probable sepsis

Un modelo clínico desarrollado con regresión logística multifactorial identificó que 2 de 3 variables clínicas—Escala de coma de Glasgow de 13 o menos, presión sistólica de 100 mm Hg o menos y frecuencia respiratoria de 22/min o mayor—tuvo validez pronóstica similar a la de toda la puntuación SOFA fuera de la UCI.

Para pacientes en la UCI con presunta infección, la puntuación SOFA tuvo validez pronóstica superior a la de este modelo, reflejando probablemente los efectos modificadores de las intervenciones (vasopresores, sedantes, respiración asistida). El

agregado de la medición del lactato no mejoró significativamente la validez pronóstica, pero puede ayudar a identificar a los pacientes con riesgo intermedio.

Esta nueva determinación, llamada qSOFA (**Cuadro 2**), proporciona criterios sencillos de medir para identificar a los pacientes adultos con presunta infección que probablemente tendrán mal evolución (Cuadro 2). Debido a que la validez pronóstica no cambió, el grupo de trabajo hizo hincapié en la alteración del estado mental, porque representa toda puntuación de la Escala de coma de Glasgow menor de 15 y reduce la carga de mediciones.

Cuadro 2. Criterios qSOFA

Frecuencia	respiratoria	$\geq 22/\text{min}$	
Alteración	del	estado	mental
Presión sistólica ≤ 100 mm Hg			

Aunque la qSOFA es menos sólida que la puntuación SOFA de 2 o mayor en la UCI, no requiere pruebas de laboratorio y se puede evaluar rápidamente. El grupo de trabajo sugiere emplear los criterios de qSOFA para motivar a los médicos a investigar más a fondo la disfunción orgánica, a iniciar o aumentar el tratamiento y a considerar derivar a la UCI o aumentar la frecuencia de los controles. El grupo considera que los criterios qSOFA positivos deben también hacer pensar en la posible infección en pacientes sin diagnóstico de infección.

1.1.7 Nueva Definición de shock séptico

El **shock séptico** se define como una subcategoría de la sepsis en la que las alteraciones circulatorias y del metabolismo celular son lo suficientemente profundas como para aumentar considerablemente la mortalidad.

El grupo de trabajo acordó unánimemente que el concepto de shock séptico debía reflejar una enfermedad más grave con mucha mayor probabilidad de muerte que la sepsis sola⁶.

1.1.8. Criterios clínicos para identificar el shock séptico

Primero se efectuó una revisión sistemática que evaluó cómo hacer operativas las definiciones actuales. Esto sirvió de apoyo a un proceso Delphi para determinar la definición actualizada y los criterios clínicos de shock séptico.

El proceso Delphi evaluó los acuerdos en las descripciones de los diferentes términos para incluirlos en los nuevos criterios clínicos. La mayoría (n = 14/17; 82,4%) de los miembros del grupo de trabajo acordó que hipotensión era una presión arterial media menor de 65mm Hg, según la decisión pragmática de que ésta era la presión más frecuente en la base de datos de pacientes con sepsis.

La mayoría (11/17; 64.7%) del grupo acordó que el aumento de la concentración de lactato refleja la disfunción celular en la sepsis, si bien reconociendo que contribuyen múltiples factores, como la llegada insuficiente de oxígeno a los tejidos, la alteración de la respiración aeróbica, la aceleración de la glucólisis aeróbica y la reducción de la depuración hepática.

El aumento del lactato es, sin embargo, un marcador razonable de la gravedad de la enfermedad y su aumento es pronóstico de una mayor mortalidad.

Se identificaron por procesos Delphi de consenso, tres variables (hipotensión, aumento del ácido láctico y necesidad sostenida de tratamiento vasopresor) para explorar en estudios de cohortes, examinando distintas combinaciones y diferentes umbrales de lactato.

La primera base de datos consultada fue el registro múlticéntrico internacional de la Surviving Sepsis Campaign, con 28150 pacientes infectados con por lo menos 2 criterios SRIS y por lo menos un criterio de disfunción orgánica. Se identificaron 18840 pacientes con tratamiento vasopresor, hipotensión (presión arterial media <65 mm Hg, o aumento del ácido láctico (>2 mmol/ [18 mg/dl]) tras la reanimación con líquidos.

Los pacientes con hipotensión resistente a los líquidos que necesitaron vasopresores y con aumento del ácido láctico fueron el grupo de referencia para comparar las diferencias entre los grupos en los cocientes de probabilidades (OR por las siglas del inglés) ajustados según el riesgo para mortalidad.

La mortalidad intrahospitalaria ajustada según el riesgo fue significativamente mayor ($P < 0,001$ en relación con el grupo de referencia) en los pacientes con hipotensión resistente a los líquidos que necesitó vasopresores y con aumento del lactato (42,3% y 49,7% a umbrales para el ácido láctico > 2 mmol/l [18 mg/dl] o >4 mmol/l [36 mg/dl], respectivamente) en relación con el aumento del ácido láctico solo (25,7% and 29,9% de mortalidad para aquellos con lactato >2 mmol/l [18 mg/d] y >4 mmol/l [36 mg/dl], respectivamente) o con hipotensión resistente que exigió vasopresores, pero con lactato de 2 mmol/l (18mg/dl) o menos (30,1%).

Con las mismas 3 variables y clasificación similar, la mortalidad no ajustada en pacientes infectados en 2 grandes bases de datos electrónicas no relacionadas (University of Pittsburgh Medical Center [12 hospitales; 2010-2012; $n = 5984$] y Kaiser Permanente

Northern California [20 hospitales; 2009-2013; n = 54135]) mostraron resultados reproducibles.

La asociación de hipotensión, empleo de vasopresores y lactato >2 mmol/l (18 mg/dl) identificó a pacientes con tasas de mortalidad del 54% en el University of Pittsburgh Medical Center (n = 315) y del 35% en el Kaiser Permanente Northern California (n = 8051).

Estas tasas de mortalidad fueron mayores que las del 25,2% (n = 147) y 18,8% (n = 3094) en pacientes con hipotensión sola, 17,9% (n = 1978) y 6,8% (n = 30209) en pacientes con ácido láctico >2 mmol/l (18 mg/dl) solo y del 20% (n = 5984) and 8% (n = 54135) en pacientes con sepsis en el University of Pittsburgh Medical Center y Kaiser Permanente Northern California, respectivamente.

El grupo reconoció que el ácido láctico no se puede medir en todos los hospitales, pero no obstante esto, los criterios clínicos para el shock séptico se crearon con hipotensión y aumento del ácido láctico porque la asociación de ambos abarca tanto la disfunción celular como el compromiso cardiovascular y se asocia con una mortalidad ajustada para el riesgo significativamente mayor. **(Cuadro 3)**

Cuadro 3.

Recomendaciones para la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE) de la OMS y para definiciones para el público

Terminología y codificación en la Clasificación Internacional de enfermedades

Recomendaciones actuales y terminología	Sepsis	Shock Séptico
Consensos de 1991 y 2001 sobre terminología	Sepsis grave. Hipoperfusión inducida por sepsis	Shock séptico.
Definición de 2015	La sepsis es una disfunción multiorgánica potencialmente mortal causada por una respuesta anormal del huésped a la infección.	El shock séptico es un subgrupo de la sepsis en el cual las alteraciones circulatorias, celulares y metabólicas subyacentes son lo suficientemente graves como para aumentar la mortalidad.
Criterios clínicos 2015	Infección presunta o comprobada y aumento agudo de ≥ 2 puntos SOFA (representa disfunción orgánica).	Tratamiento para la sepsis y vasopresores para aumentar la presión arterial media a ≥ 65 mm Hg y el lactato a ≥ 2 mmol/l (18 mg/dl) a pesar de la reanimación con líquidos adecuada.
Códigos CIE recomendados		
CIE 9	995,92	785,52
CIE 10	R65,20	R65,21
Marco para implementar la codificación y la investigación		*Investigar la infección sospechosa mediante cultivos seriados de sangre y antibióticos durante un período específico. Durante los períodos específicos: identificar la sepsis empleando criterios clínicos para disfunción multiorgánica. Determinar el criterio de shock, utilizando vasopresores PAM < 65 mm Hg y lactato > 18 mg/dl

*Este comentario es válido también para la columna de sepsis

Debido a la importancia de aplicar los códigos diagnósticos con exactitud, el cuadro 3 detalla cómo los nuevos criterios clínicos para la sepsis y el shock séptico se relacionan con los códigos CIE-9-CM y CIE-10 (**Cuadro 3**). El grupo de trabajo también aprobó la definición legal publicada recientemente que señala que “la sepsis es una enfermedad potencialmente mortal que surge cuando la respuesta del cuerpo a la infección lesiona sus propios tejidos”.

Para transmitir la importancia de la sepsis a la población en general, el grupo hace hincapié en que la sepsis puede causar la muerte, especialmente si no se la reconoce precozmente y no se la trata con rapidez. A pesar de los adelantos médicos, la sepsis sigue siendo la principal causa de muerte por infección. Se recomienda difundir campañas educativas para informar mejor sobre este trastorno letal.

1.1.9. Controversias y limitaciones

Definir la sepsis y el shock séptico entraña desafíos inherentes. Sepsis es un término amplio que se aplica a un proceso sobre el que los conocimientos aún son incompletos. No existen todavía criterios sencillos que no sean ambiguos, ya sea clínicos o biológicos, de estudios por imágenes o de los análisis que identifiquen distintivamente al paciente séptico. El grupo reconoció la imposibilidad de lograr consenso total sobre todos los puntos.

La nueva definición de la sepsis refleja una visión actualizada sobre la patobiología, en especial sobre lo que distingue la sepsis de una infección sin complicaciones. El grupo también ofrece criterios clínicos de medición fácil que captan la esencia de la sepsis, pero sin embargo se pueden explicar y registrar objetivamente.

El análisis inicial, retrospectivo, indicó que qSOFA podría ser una herramienta útil, especialmente para los médicos que trabajan fuera de la UCI (y quizás también fuera del

hospital, puesto que qSOFA se basa solo sobre datos del examen físico), para identificar con rapidez a los pacientes infectados con probabilidades de mala evolución.

El grupo de trabajo recomienda la validación prospectiva en múltiples servicios de salud para confirmar su solidez y la posibilidad de incorporarlo en futuras reiteraciones de las definiciones. Esta sencilla puntuación puede ser especialmente importante en lugares de escasos recursos que no disponen de inmediato de datos de laboratorio ni de bibliografía sobre epidemiología de la sepsis.

Ni qSOFA ni SOFA son por sí solas una definición de sepsis. Es esencial, sin embargo, que no poder cumplir con 2 o más criterios qSOFA o SOFA no haga postergar la investigación o el tratamiento de la infección. qSOFA se puede efectuar rápidamente a la cabecera del paciente sin necesidad de análisis de sangre y se espera que facilite la rápida identificación de una infección potencialmente mortal. Si no se efectuaron aún análisis, esta puntuación puede impulsar su realización para identificar la disfunción orgánica. El grupo de trabajo señala que los criterios SRIS aún pueden ser útiles para identificar la infección.

Existe controversia sobre el empleo de las cifras de lactato para identificar la sepsis en el paciente infectado. Las cifras de lactato son un indicador sensible, si bien inespecífico, de estrés celular o metabólico más que de "shock." Sin embargo, la asociación de hiperlactatemia con hipotensión resistente a los líquidos es característica de un grupo con mortalidad especialmente alta y ofrece así un identificador más sólido del concepto fisiológico y epidemiológico del shock séptico que cualquiera de los dos criterios por separado. La identificación del shock séptico como una entidad diferente tiene más importancia epidemiológica que clínica.

Cuando no se dispone de la medición del lactato, puede ser necesario emplear la hipotensión y otros criterios compatibles con hipoperfusión tisular para el diagnóstico de shock séptico (por ejemplo el retraso del llenado capilar).

El grupo de trabajo se centró sobre los pacientes adultos, pero reconoce la necesidad de crear definiciones actualizadas similares para las poblaciones pediátricas y de emplear criterios clínicos que tengan en cuenta la variación dependiente de la edad en las respuestas fisiopatológicas.

1.1.10. Consecuencias

El grupo de trabajo generó nuevas definiciones que incorporan conocimientos actualizados sobre la biología de la sepsis, entre ellos la disfunción orgánica. No obstante, la falta de estandarización de los criterios, similar a su ausencia en muchos otros síndromes, impide la validación clara y definida y en cambio exige estimaciones aproximadas. Para ayudar al médico y quizás motivar la intensificación del tratamiento, se crearon y validaron criterios clínicos sencillos (qSOFA) que identifican a los pacientes con presunta infección que probablemente evolucionarán mal (curso prolongado en la UCI y muerte).

Este enfoque tiene consecuencias epidemiológicas e investigativas importantes. Los criterios propuestos deben ayudar a la clasificación diagnóstica una vez finalizados la evaluación inicial y el tratamiento inmediato.

Hay posibilidad de conflicto con los sistemas de puntuación de disfunción orgánica y las investigaciones en marcha. Muchas de estas puntuaciones se crearon por consenso, mientras que un aspecto importante de este trabajo es la interrogación de los datos, si bien retrospectivamente, de grandes poblaciones de pacientes.

El grupo de trabajo sostiene que la estandarización de las definiciones y de los criterios clínicos es esencial para asegurar la comunicación clara y la apreciación más

exacta de la magnitud del problema de la sepsis. Otra dificultad es que la infección raras veces está confirmada microbiológicamente cuando se inicia el tratamiento; incluso cuando se finalizan las pruebas microbiológicas, la sepsis con cultivo positivo se observa en solo el 30% - 40% de los casos. Los estudios epidemiológicos a futuro deben considerar el informe de la proporción de sepsis con cultivos positivos.

Los cambios en la codificación de la CIE pueden llevar varios años, por eso las recomendaciones del cuadro 2 demuestran cómo aplicar entretanto las nuevas definiciones con el sistema de la CIE actual.

El debate y la discusión que este trabajo inevitablemente generará son bienvenidos. Los aspectos de las nuevas definiciones dependen de la opinión de los especialistas; los mayores conocimientos sobre la biología de la sepsis, los nuevos enfoques diagnósticos y el aumento de la obtención de datos alimentarán su reevaluación y revisión continuas.

1.1.11. Conclusiones

Estas definiciones y criterios clínicos actualizados deben facilitar el diagnóstico más temprano y el tratamiento más oportuno de los pacientes con sepsis. Este proceso, sin embargo, sigue estando en elaboración. El grupo de trabajo recomienda que la nueva definición se designe como Sepsis-3, y las de 1991 y 2001 como Sepsis-1 y Sepsis-2, respectivamente.

En resumen, la sepsis/shock séptico podría definirse como una catástrofe metabólica en la que no se aporta suficiente sustrato metabólico (sobre todo oxígeno) a los tejidos, con hipoperfusión y lesión tisular, y que está producido por microorganismos o sus productos tóxicos²³. Esta serie de acontecimientos, que finalmente desembocan en fallo multiorgánico y muerte, se desarrollan en forma de cascada.

1.2. EPIDEMIOLOGÍA:

La verdadera epidemiología de la sepsis y el shock séptico es difícil de describir porque estas entidades están definidas por criterios clínicos y no por valores de laboratorio. De este modo el establecimiento de datos epidemiológicos precisos requiere de amplios estudios prospectivos. De un lado es conocido que el 27-62% de pacientes bacteriémicos desarrollan una sepsis severa o shock séptico; por otro lado, alrededor de la mitad de pacientes con sepsis severa o shock séptico presentan bacteriemia. Basándose en estos datos y en el análisis de la frecuencia de sepsis o shock séptico en Unidades de Cuidados Intensivos y Hospitales Universitarios, se ha estimado que la frecuencia de sepsis se ha incrementado en las últimas décadas

La sepsis asociada a disfunción orgánica aguda, definida como sepsis grave por la conferencia de consenso SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS, tiene una elevada incidencia y sigue siendo una de las primeras causas de mortalidad, a pesar de las continuas mejoras que se producen en la asistencia a los pacientes críticos. La incidencia de sepsis grave varía según los estudios y la población estudiada.

Se estima que A nivel mundial se producen 18 millones de casos de sepsis cada año. Esto equivale a la suma de las poblaciones de Dinamarca, Finlandia, Irlanda y Noruega.

En la población francesa la incidencia de sepsis grave se ha cuantificado en 95 casos/100.000 habitantes, en Australia-Nueva Zelanda en 77 casos/100.000 habitantes y en Inglaterra-País de Gales-Irlanda del Norte en 51 casos/100.000 habitantes. En Estados Unidos la incidencia de sepsis grave se ha estimado en cerca de 300 casos/100.000 habitantes, lo que supone un millón de casos de sepsis cada año⁸

La mortalidad de la sepsis grave se encuentra entre el 28 y el 50% en los diferentes trabajos publicados, dependiendo del tipo de microorganismo causal, del lugar de la infección, de la edad, del sexo, de comorbilidades, de la gravedad de la enfermedad y del genotipo del paciente. Estas cifras de incidencia y mortalidad de la sepsis grave superan las de otras enfermedades con un gran impacto social, como el cáncer de mama o el sida⁹

La elevada incidencia, morbilidad y mortalidad de la sepsis la convierten en un importante problema sanitario que requiere la adopción de medidas específicas dirigidas a tomar conciencia del problema, desarrollar pautas de actuación de acuerdo a los conocimientos más actuales y facilitar su puesta en práctica en la rutina asistencial.

La sepsis es la más severa manifestación de una infección aguda y que causa fallo multiorgánico y muerte en el 30% de los casos (24) y han ocurrido de manera creciente en los últimos 20 años. Según la National Center for Health Statistics la incidencia anual de sepsis en Estados Unidos ocurren aproximadamente 500,000 casos de sepsis al año con una mortalidad aproximada del 30% (25% de las muertes se atribuyen a la sepsis en sí y 10% a las enfermedades inherentes). La septicemia (término utilizado en las estadísticas) es la décima tercera causa de mortalidad en Estados Unidos y los costos relacionados con la atención de los pacientes infectados oscilan entre 5 y 10 mil millones de dólares⁸.

La incidencia de sepsis grave varía según los estudios y la población estudiada. En España se ha reportado una incidencia de sepsis grave de 104 -140 casos por 100.000 habitantes y año, y una incidencia de shock séptico de 31 casos por 100.000 habitantes y año (Esteban et al. 2007). Esto supone que cada año hay en España alrededor de 50.000 casos de sepsis grave.

La mortalidad de la sepsis grave se encuentra entre el 28 y el 50% en el shock séptico, dependiendo del tipo de microorganismo causal, el lugar de la infección, edad,

sexo, enfermedades concomitantes, gravedad de la enfermedad y genotipo del paciente. Esto supone 17.000 fallecimientos anuales por sepsis en España y 1.400 muertes diarias por sepsis en todo el mundo. Estas cifras de incidencia y mortalidad de la sepsis grave superan las de otras enfermedades con un gran impacto social como el cáncer de mama o el SIDA¹²

Las Unidades de Cuidados Intensivos concentran gran parte de la mortalidad hospitalaria. El grupo más ominoso está integrado por aquellos pacientes que cursan con sepsis severa o shock séptico, síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) e/o injuria renal aguda (IRA). Los ingresos en las UCIs Españolas siguen esta tendencia, así en estudios realizados mediante los programas ENVIN muestran que algunas características clínicas de los mismos se mantienen estables; no hay diferencias significativas en cuanto a su edad media, entre 62 y 65 años, sexo, con un claro predominio de varones, valores de Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II), que oscilan entre 20 y 22, cifras de procalcitonina, entre 33-37 ng/ml, y cifras de lactato arterial en las primeras 6 h, que oscilan entre 25 y 31 mg/dl. Respecto a las disfunciones orgánicas, la afectación hemodinámica y renal han sido las más prevalentes durante todo este período; ha habido una tendencia decreciente significativa de la afectación respiratoria y trombocitopenia, y creciente de la coagulopatía, manteniéndose sin cambios significativos el porcentaje de pacientes con hiperbilirrubinemia. Durante los 3 primeros años, los pacientes ingresaban fundamentalmente desde planta de hospitalización, pero en los últimos años se ha producido una tendencia creciente significativa de ingresos desde Urgencias, así como de la solicitud de lactato sérico, la extracción de hemocultivos y la administración de antibiótico previo al ingreso en la UCI. En cuanto al origen, las sepsis de origen respiratorio y abdominal han sido las más frecuentes a lo

largo de estos años, seguidas de las infecciones del tracto urinario, que han sufrido una tendencia creciente, llegando a ser la primera causa de Sepsis Grave/Shock Séptico en 2012. La mortalidad en la UCI y la hospitalaria global han descendido¹²

A pesar del descenso, la mortalidad es considerablemente elevada, alcanzando 45% en el SDRA grave y 18,4% en la sepsis severa^{10 11}. En el campo farmacológico no han existido avances sustanciales y los esfuerzos globales se han enfocado en la implementación de protocolos de diagnóstico precoz y de tratamientos basados en metas. Estas medidas han contribuido a una disminución de la mortalidad, pero no han cambiado sustancialmente el pronóstico.

El shock séptico es la primera causa de muerte en las unidades de cuidados intensivos (UCI)¹³. Un 9% de los ingresos en UCI es por sospecha de sepsis, confirmada en un 6.3% de los casos, con una mortalidad del 56% a los 28 días¹⁴. Se ha estimado que la mortalidad por sepsis en Europa Occidental está en torno a los 150.000 pacientes / año¹⁵, extrapolando estos datos a la población española, se producirían cerca de 74.000 casos de sepsis / año de los que un 40% presentarían shock séptico, de los que fallecerían un 35%. A pesar de los grandes avances en tratamientos de soporte vital, en antibióticos, en cirugía y en conocimientos sobre la fisiopatología de la sepsis, la mortalidad de este proceso ha permanecido inalterable en las últimas dos décadas.

El incremento en la frecuencia de sepsis y shock séptico parece debido a múltiples factores. Un incremento de las sepsis por gérmenes gram-negativos siguió a la introducción de los antibióticos de primera generación, los cuales eran más activos frente a bacterias gram-positivas. Los nuevos antibióticos se caracterizan por su amplio espectro de actividad antibacteriana y por sus potentes efectos bactericidas. De este modo, muchos

pacientes son capaces de sobrevivir a infecciones más graves y prolongadas pudiendo desarrollar cuadros de shock séptico.

Otros factores concomitantes implicados en el incremento de cuadros de sepsis incluyen intervenciones quirúrgicas más agresivas, el uso generalizado de procedimientos y técnicas invasivas, el incremento de pacientes con graves enfermedades de base, especialmente en las UCI, el mayor uso de terapias inmunosupresoras para receptores de trasplantes de órganos, y la generalización de la radio y quimioterapia en el tratamiento de enfermos de cáncer.

1.2.1 Epidemiología de la sepsis en las unidades de cuidados intensivos en España y Europa

Si hubiera que nombrar una enfermedad como la más característica de las que se atienden en las Unidades de Cuidados Intensivos, esa será la Sepsis, la causa más frecuente en UCI no coronarias (Zimmerman, 1999), la enfermedad con mayor prevalencia en la UCI (Torrabadella, 2001), y posiblemente el principal caballo de batalla de la medicina intensiva contemporánea.

En los últimos años se han conseguido avances importantes en el conocimiento de la epidemiología y la fisiopatología de la sepsis, y se han encontrado tratamientos efectivos, que se añaden a los beneficios mostrados recientemente por otras medidas terapéuticas en los pacientes críticos.

La importancia de la sepsis trasciende sin embargo, las Unidades de Cuidados Intensivos. Recientemente se han llevado a cabo importantes estudios epidemiológicos que han dejado clara la elevada incidencia y letalidad poblacionales de la sepsis, habiéndose estimado que esta enfermedad es responsable de más muertes que el infarto agudo de miocardio o el ictus, y que los cánceres de mama, colon, recto , páncreas y próstata, todos juntos (Torrabadella, 2000). Se trata de un problema de gran envergadura

desde el punto de vista de la salud pública. La importancia de la sepsis será aún mayor, por cuanto la incidencia de la sepsis está aumentando, y se espera que lo siga haciendo. En Estados Unidos, se ha estimado que en los últimos 20 años la incidencia de la sepsis ha aumentado a un ritmo del 8,7% anual (Vincent, 1998), y en Europa se manejan cifras similares (Torradadella. 2001). Este aumento en la incidencia de la sepsis se ha puesto en relación con el aumento de la edad de la población, y la generalización de procedimientos invasivos y fármacos quimioterápicos e inmunosupresores, a pesar de las mejoras terapéuticas introducidas en los últimos años, que han reducido la letalidad de la sepsis, su cada vez mayor incidencia hace que el número de fallecimientos por esta enfermedad está aumentado (Fink, 2001).

Por los anteriores motivos, se podría considerar que la sepsis es una enfermedad “emergente”, ya que aunque se trata de una enfermedad antigua, sus criterios de definición actuales se han establecido en los 10-15 últimos años (a partir de la conferencia de consenso de 1991) y presenta una elevada incidencia y mortalidad, ambas en aumento, por lo que se la puede considerar una amenaza para la salud actual y futura de la población. Por ellos se requiere la adopción de políticas sanitarias específicas para el abordaje de la sepsis.

Angus y colaboradores en el año 2001, realizaron un notable esfuerzo por conocer la epidemiología de la sepsis grave en Estados Unidos, basándose en la revisión retrospectiva de una amplia muestra de los diagnósticos de alta hospitalaria del año 1995 según la clasificación ICD-9, combinando la existencia de infección documentada y de disfunción aguda de órganos, aunque sin establecer una relación temporal entre ambos. Los investigadores encontraron una incidencia de sepsis grave de 300 casos por 100.000 habitantes y año, de los cuales aproximadamente las dos terceras partes recibieron

Cuidados Intensivos (ingreso en UCI, Unidad Coronaria o Unidad intermedia con ventilación mecánica). La mortalidad global de la sepsis grave fue del 28,6%, y en los pacientes ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos del 34,1% (dentro de la sepsis grave se incluyeron los pacientes con shock séptico, que no fueron analizados separadamente). En cifras absolutas, calcularon que cada año se producen en Estados Unidos 751.000 casos nuevos de sepsis grave, de los cuales 400.000 ingresan en UCI; las estimaciones para dicho país prevén un aumento anual del 1,5% en la incidencia de sepsis grave, con lo que se alcanzaría el millón de episodios anuales en la próxima década. El número de muertos por sepsis calculado para Estados Unidos fue de 215.000 por año, similar al de fallecidos por infarto de miocardio (211.000 anuales). Según los datos de Angus (7) , la sepsis grave fue la causa de la muerte de casi el 10% de todos los fallecimientos de Estados Unidos en 1995 (Angus, 2001).

Se ha descrito que la incidencia de septicemia es mayor en sujetos de edad avanzada y que el ritmo de crecimiento en este grupo de edad es además más acelerado que en el resto de la población. El estudio de Angus muestra una relación exponencial entre la incidencia de sepsis grave y la edad, poniendo de manifiesto que ésta es 100 veces más frecuente en mayores de 85 años (2.620 por 100.000) que en niños (20 por 100.000), y que la incidencia se dispara a partir de la sexta década de la vida. La mortalidad también aumenta con la edad, esta vez de forma lineal, desde porcentajes inferiores al 15% por debajo de los 30 años, hasta el 40% a partir de los 85.

El 55% de los enfermos con sepsis grave tenían una o más comorbilidades (enfermedades de base), y la mortalidad en este grupo fue del 32%. En ausencia de comorbilidades, la mortalidad de la sepsis grave es mucho más baja, especialmente en sujetos jóvenes (en menores de 45 años, la mortalidad fue del 28% y del 11% con y sin comorbilidades, respectivamente (Angus, 2001)), y varía claramente en función de la edad; sin embargo,

en sujetos con comorbilidades, la mortalidad depende más de la enfermedad de base, y varía menos en función de la edad; en los sujetos de mayor edad, la mortalidad es prácticamente la misma con y sin comorbilidades, y depende probablemente más de la gravedad del proceso agudo y de la disfunción aguda de órganos.

El 55% de los enfermos con sepsis grave tenían una o más comorbilidades (enfermedades de base) y la mortalidad en este grupo fue del 32%. En ausencia de comorbilidades, la mortalidad de la sepsis grave es mucho más baja, especialmente en sujetos jóvenes (en menores de 45 años, la mortalidad fue del 28% y del 11% con y sin comorbilidades, respectivamente), y varía claramente en función de la edad; sin embargo, en sujetos con comorbilidades, la mortalidad depende más de la enfermedad de base, y varía menos en función de la edad; en los sujetos de mayor edad, la mortalidad es prácticamente la misma con y sin comorbilidades, y depende probablemente más de la gravedad del proceso agudo y de la disfunción aguda de órganos.

Existen al menos tres estudios grandes, retrospectivos, sobre sepsis, fundamentados en las bases de datos de la US National Health, como el National Hospital Discharge Survey y el National Inpatient Sample. Estos grupos han concluido que se ha registrado un incremento en la incidencia de sepsis de alrededor de 13.7% cada año.

Diversos factores pueden haber contribuido a este escenario, entre ellos:

- a. La gran población de ancianos, que a menudo vive con comorbilidades crónicas
- b. El incremento de la sobrevivencia en la UCI de pacientes que sufren traumatismo grave o infarto agudo de miocardio, quedando luego predispuestos a infecciones durante su convalecencia

c. La creciente dependencia de procedimientos invasivos para el diagnóstico y tratamiento para una amplia gama de enfermedades

d. El creciente número de enfermedades tratadas con fármacos inmunosupresores

e. El aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos

De entre los factores que se tiene conocimiento que influyen en la incidencia de la sepsis, las enfermedades crónicas y los procedimientos invasivos se han asociado de manera muy marcada con una predisposición a la infección. Esteban et al. encontraron que la sepsis grave era mas común en los pacientes con enfermedad renal crónica (46% vs. 27%, p 0.004), enfermedad hepática crónica (43% vs. 27%, p 0.03) y pacientes quirúrgicos (17% vs. 7%, p < 0.001), cuando se compararon con pacientes con otras enfermedades.

Los pacientes geriátricos tienen un mayor número de enfermedades crónicas, son más susceptibles de verse expuestos a procedimientos invasivos, como la cateterización uretral, y a padecer infecciones. De hecho, 3/5 partes de los pacientes con sepsis son mayores de 65 años de edad, y la incidencia de sepsis en la población mayor de 85 años de edad es de 2 500/100 000, lo cual significa un riesgo relativo de 13.1 (IC 95%, 112.6-14.6) cuando se compara con la población en general. Resulta interesante que algunos estudios han valorado la relación entre etnicidad y sepsis. Dombrovskiy et al (16). encontraron que las personas de raza negra tenían un mayor riesgo de padecer sepsis, en comparación con las de raza blanca, especialmente entre la población adulta (RR 4.35; IC 95%,¹⁷

Los negros con sepsis eran también más jóvenes (edad media de 61.6 ± 0.25 para las personas de raza negra y 72.8 ± 0.11 para las de raza blanca), tenían una probabilidad

más alta de ingresar a la UCI (tasa de probabilidad [OR, odds ratio], 1.14; IC 95%, 1.07-1.21) y una estancia más prolongada en la UCI (17.9 ± 0.26 días vs. 15.2 ± 0.12 días, $p < 0.0001$). Los adultos mayores han vinculado esta discrepancia a una mayor incidencia de hipertensión y diabetes entre la población de color y una menor cobertura de su póliza¹⁸ de la Academia Nacional de Medicina de seguro en este grupo. Sin embargo, Barnato et al. Encontraron que el riesgo relativo para personas de raza negra seguía siendo de 1.44 (IC 95%, 1.42-1.46) incluso después de la estandarización para los códigos postales, lo cual sugiere que las desigualdades sociales por sí solas no explican esta diferencia.

Algunos grupos han encontrado un mayor riesgo de padecer sepsis en los hombres, como Cheng (64.8% de los pacientes eran varones, $p < 0.01$) y Peelen (57.5% varones), pero otros, como Dombrovskiy¹⁷, no lograron encontrar esta asociación. Esta cuestión sigue siendo objeto de debate.

Por último, dos grandes estudios encontraron una incidencia creciente de sepsis durante el invierno. Degoricija et al. en un estudio prospectivo de 6 años de duración llevado a cabo en Croacia, encontraron que sólo 21.3% de los episodios de sepsis ocurrieron en verano, contra 34.4% en invierno ($p < 0.022$). Danaïy, del National Center for Health Statistics (EU), informó que la tasa de incidencia estacional de sepsis grave aumentó en 17.7% en el periodo entre el otoño y el invierno, a 13 y 15.3 casos por 100 000, respectivamente.¹⁹

Ambos grupos encontraron también una más alta mortalidad de casos en invierno: 39 vs. 35.9%, y una OR de 0.42 (IC 95%, 0.2- 0.9). Existe una diferencia en la epidemiología de las enfermedades infecciosas entre las diferentes estaciones del año, de manera que las infecciones respiratorias son más comunes en invierno y las infecciones urinarias y abdominales, en verano, y esto podría explicar estos hallazgos; pero los

autores no pudieron encontrar evidencia suficiente que apoyara esta teoría, por lo que sugieren que las diferencias encontradas podrían estar relacionadas con una mayor respuesta inmunitaria durante el invierno¹⁹.

La mortalidad aumentó con el número de órganos con disfunción aguda, desde el 21% con un fallo de órganos hasta el 76% con cuatro o más fallos. Los fallos que se asociaron a más mortalidad fueron el hepático (54%), el respiratorio (40%) y el renal (38%).

La mortalidad también varió ampliamente en función del foco de infección, siendo mayor en la bacteriemia primaria (41%) y la neumonía (33%). Los autores destacaron que la mortalidad de la sepsis grave es muy dependiente de factores relacionados con el paciente individual, por lo que la mortalidad atribuible puede ser mucho más baja que el 30% de mortalidad bruta observada, cuestión importante a la hora de diseñar los ensayos clínicos y calcular el tamaño muestral necesario en tratamientos para la sepsis, que habrían tenido en muchos casos baja potencia estadística por no tener en cuenta este hecho. También Martin et al. en el año 2003 en Estados Unidos, recogieron una muestra aleatoria de informes de alta hospitalaria entre 1979 y 2000, encontrando un aumento de la incidencia anual de sepsis del 8,7% desde 83 hasta 240 casos por 100.000 en la actualidad (ritmo de crecimiento mucho más elevado que el estimado por Angus). La mortalidad hospitalaria disminuyó desde el 27,8% en el primer quinquenio (1979-1984) hasta el 17,9% del último (1995-2000), aunque el número total de muertes por sepsis casi se ha triplicado como consecuencia de su mayor incidencia. A lo largo de este periodo de 22 años, la edad de los pacientes con sepsis ha aumentado, desde 57,4 años en el primer periodo hasta 60,8 años en el último.

La sepsis es ahora más grave que hace 20 años. La proporción de pacientes con sepsis que presentan algún fallo de órganos se ha duplicado en este periodo, desde el

16,8% hasta el 33,6%: en la actualidad uno de cada tres pacientes con sepsis tienen sepsis grave. La incidencia actual de sepsis grave es por tanto de 81 casos por cada 100.000 habitantes, cifra muy inferior a la señalada por Angus, 1999. Los órganos que fallaron más a menudo fueron los pulmones (18%), los riñones (15%), y los sistemas cardiovascular (7%) y hematológico (6%), y la mortalidad aumentó con cada órgano adicional fallado. En la actualidad, la frecuencia con que los supervivientes requieren permanecer ingresados en centro de rehabilitación o de dependencia ha aumentado considerablemente, del 16,8% al 31,8%.

En Francia se han encontrado resultados similares; en el estudio EPISEPSIS (Brun-Bruissson et al. 2004), el 14,6% de los pacientes ingresados en UCI presentaron sepsis grave o shock séptico, que fueron adquiridos en UCI en el 30% de los casos, estimándose con estas cifras una incidencia poblacional en Francia de 95 casos por 100.000 habitantes y año. La mortalidad a los 30 días fue del 35%, y a los dos meses del 41,9%, aunque el 11,4% aún permanecían ingresados en el hospital. Los factores predictivos asociados de manera independiente a la mortalidad fueron la presencia de comorbilidades (insuficiencia cardíaca o hepática crónicas), y la gravedad y disfunción aguda de órganos (shock o insuficiencia renal aguda, puntuaciones SAPS II y SOFA). Los autores destacan la comparación de sus datos actuales con los obtenidos por ellos mismos hace diez años empleando la misma metodología, que confirman que la sepsis grave ha aumentado de incidencia, y ha reducido su mortalidad, probablemente como consecuencia de las mejoras terapéuticas introducidas en los últimos años; el resultado neto sin embargo no permite el optimismo, ya que el número total de muertes por sepsis ha aumentado.

En Inglaterra, Gales e Irlanda del Norte (Padkin et al. 2003) se estudió la epidemiología de la sepsis grave en 91 UCIs entre 1995 y 2000, periodo en el que ingresaron 56.673 pacientes adultos, encontrándose que el 27,1% de los ingresos tenían

en las primeras 24 horas sepsis grave; la mortalidad en UCI fue del 35%, y la mortalidad hospitalaria del 47%, con diferencias notables en función del grupo de edad: 17% entre los 16 y 19 años y 64% entre los mayores de 85 años. Los pacientes con sepsis grave supusieron el 45% de las estancias en UCI y el 33% de las estancias de enfermos de UCI en el hospital. Extrapolando los datos a la población de estos países, se estimó que 1 de cada 100.000 habitantes por año ingresan en UCI con sepsis grave, y 24 de cada 100.000 personas mueren cada año después de ingresar en UCI con sepsis grave.

Existen pocos datos con respecto a la epidemiología de la sepsis grave en los países latinoamericanos. Se ha publicado un estudio multicéntrico brasileño de cohortes, el estudio BASES (2004), que incluyó prospectivamente 1.383 pacientes adultos ingresados en 5 UCI polivalentes, en el que se encontró una incidencia de sepsis, sepsis grave y shock séptico de 61,36 y 30 casos por 1.000 habitantes-día de UCI, respectivamente. La mortalidad fue del 24,3% para los pacientes con SRIS, 34,7% con sepsis, 47,3% con sepsis grave y 52,2% con shock séptico. Para los pacientes con SRIS sin infección, la mortalidad fue del 11,3%. El foco de infección más frecuente fue el respiratorio. Los autores realizaron una comparación entre los hospitales privados y públicos, encontrando en los primeros una menor mortalidad (12,5% frente a 28,9%; $p < 0,0005$). Los pacientes de los hospitales públicos presentaban con mayor frecuencia sepsis grave y shock séptico que en los hospitales privados, y tuvieron una mayor mortalidad dentro de cada uno de los estadios de sepsis, a igualdad de gravedad de disfunción de órganos, medida mediante el sistema SOFA. El estudio revela claramente la influencia del nivel socioeconómico tanto en la incidencia como en la mortalidad de la sepsis ²⁰.

En España también se han dado a conocer datos sobre la epidemiología de la sepsis grave. J Blanco et al. han presentado los datos de un estudio multicéntrico realizado en las UCI de 13 hospitales de Castilla-León y Asturias, durante 6 meses del año 2002, periodo

en el que ingresaron 2.619 pacientes adultos con patología no coronaria, de los que el 11,9% presentaron al menos un episodio de sepsis grave. El 81% de los episodios de sepsis grave se diagnosticaron en el momento del ingreso en UCI, y el resto se presentó durante la estancia en Cuidados Intensivos. El 67% eran varones y la edad mediana fue de 68 años. El 37% de los pacientes tenían al menos una comorbilidad. El 78% de los casos de sepsis grave tenían fallo de dos o más órganos; los fallos más frecuentes fueron el respiratorio (75%) y el cardiovascular (shock: 68%). La mortalidad en UCI fue del 48%, y la mortalidad hospitalaria del 54%. Fueron variables predictoras de mortalidad: la puntuación SOFA cardiovascular 3 ó 4; la diferencia en las puntuaciones SOFA entre los días 3 y 1, y el alcoholismo crónico. La mayoría de los estudios prospectivos realizados hasta ahora han incluido solo pacientes ingresados en UCI, asumiendo que todos o la mayoría de los enfermos con sepsis grave se encuentran ingresados en dichas unidades. Esto puede no ser el caso, como pone de manifiesto un interesante estudio realizado por Esteban y col. en tres hospitales del sur de Madrid, y comunicado recientemente (ATS 2004). En un estudio de cohortes prospectivo evaluaron la incidencia de sepsis en adultos en un área de 580.000 habitantes de Madrid, durante un periodo de 4 meses del año 2003. Se identificaron 646 pacientes con sepsis, dando una incidencia de 333 casos por 100.000 habitantes y año. El origen de la infección fue pulmonar en el 50%, urinario o ginecológico en el 19%, y gastrointestinal en el 16%. El 29% desarrollaron sepsis grave (incidencia de 97 casos por 100.000 habitantes), y el 9% por shock séptico (incidencia de 30 por 100.000). Más de la mitad de los casos de sepsis grave fueron atendidos fuera de UCI. La mortalidad hospitalaria fue del 13% en los pacientes con sepsis, 28% con sepsis grave, 46% con shock séptico. Fallecieron en el hospital el 30% de los que ingresaron en UCI y el 42% de los que recibieron ventilación mecánica. De los anteriores estudios se desprende una incidencia actual de sepsis grave en los países de nuestro entorno que

parece mantenerse entre los límites de 50 y 100 casos por 100.000 habitantes y año (tabla III); estas cifras en algunos casos pueden subestimar la incidencia real, pudiendo quedar sin detectar casos que no requieren atención en UCI, pero es improbable que estos casos tengan una influencia importante en la tasa de mortalidad, en el desarrollo de morbilidades importantes o secuelas duraderas y en costes asistenciales elevados. Las diferencias encontradas en diferentes estudios parecen debidas más a las distintas metodologías empleadas que a diferencias en las tasas de incidencia reales.

Tabla III: Cifras estimadas de incidencia poblacional de la sepsis grave

País	Nº casos por 100.000 habitantes y año
Australia y Nueva Zelanda (Finfer, 2004)	77
España (Esteban, 2004)	97
Estados Unidos (Martin, 2003)	81
Francia (Brun-Buisson, 2004)	95
Gran Bretaña (Padkin, 2003)	51
Holanda (van Gestel, 2004)	54
Noruega (Flaaten, 2004)	46

Las estimaciones de Esteban y colaboradores (Esteban et al. 2004) se aproximan mucho a las calculadas en otros países, y aunque aún no han sido publicadas en forma completa, tienen como puntos fuertes el tratarse de un estudio de cohortes prospectivo, tener una base poblacional e incluir los casos atendidos fuera de UCI; si fuera extrapolable a toda la población española las cifras de incidencia estimadas en su estudio de 97 por 100.000 habitantes, y la mortalidad del 28%, y considerando el censo de población en España a 1 de enero de 2003 de 42.717.064 habitantes (Instituto Nacional de Estadística, 2003), se producirían anualmente en nuestro país 41.436 casos de sepsis grave, y

morirían al año 11.600 personas por esta enfermedad. Estas cifras situarían a la sepsis grave en el 5º puesto como causa de muerte en España, después de cardiopatías, enfermedades cerebro vasculares, cáncer y enfermedades pulmonares crónicas, aunque contribuyendo además a la mortalidad de todas las anteriores.

Con respecto a la mortalidad de la sepsis grave (tabla IV), los estudios con base hospitalaria presentan cifras muy homogéneas a pesar de haberse llevado a cabo en diferentes países, en distintos periodos de tiempo y con diferentes metodologías; por el contrario, los estudios centrados en los enfermos de UCI presentan cifras más elevadas y más dispares, lo que sin duda refleja las diferentes políticas de ingreso y el *case-mix* de las distintas unidades.

En la infancia hay otros factores que modifican la incidencia y el pronóstico de la sepsis, siendo quizá el factor más destacado el nivel socioeconómico y sanitario de los distintos países; la prematuridad aumenta el riesgo de infección; los calendarios de vacunaciones modifican la incidencia de sepsis grave y el tipo de infecciones que aparecen en este grupo de edad. Citaremos aquí como ejemplo el de la meningitis (Palencia et al. 2004), que ha pasado en diez años de ser una enfermedad de la infancia a ser más frecuente en adultos, habiendo cambiado la mediada de edad de presentación (en los países desarrollados) de los 2 a los 25 años como consecuencia de la vacunación de neonatos frente a *Haemophilus influenzae* tipo B, y en menor medida por la reciente introducción en el calendario de vacunaciones de la vacuna frente a *N.meningitidis* serogrupo C, o la vacunación selectiva de niño frente a *S. pneumoniaei*, además de las tradicionales vacunas antivirales.

El grupo de Angus ha publicado datos sobre la epidemiología de la sepsis grave en niños y adolescentes en Estados Unidos, con la misma metodología que en pacientes adultos (Watson et al. 2003). De más de seis millones y medio de informes de alta

evaluados, casi 1,6 millones (el 26%) pertenecían a sujetos de menos de 20 años de edad. Se estimó una incidencia de sepsis grave en niños de 56 casos por 100.000 habitantes, con diferencias importantes en los distintos tramos de edad: la incidencia fue máxima en el primer año de vida (516 por 100.000), y fue mucho más baja entre los 5 y los 14 años (21 por 100.000); casi la mitad de los casos de sepsis grave tenían factores predisponentes (49%), y más de una quinta parte (22,9%) eran neonatos de bajo peso. Las infecciones más comunes fueron las respiratorias (37%) y la bacteriemia primaria (25%). La mortalidad fue máxima en el grupo de 1 a 12 meses de edad, y fue mucho mayor en los sujetos con enfermedades predisponentes. La estancia hospitalaria fue de 31 días, con un costo de la hospitalización superior a los 40.000 \$ por episodio.

Tabla IV: Mortalidad de la sepsis grave

Estudios	Mortalidad (%)
Estudios con base hospitalaria:	
España (Esteban, 2004)	28
Noruega (Flaaten, 2004)	27
USA (Angus, 2001)	28,6
Estudios centrados en UCI:	
Australia y Nueva Zelanda (Finfer, 2004)	37,5
Brasil (Silva, 2004)	47,3
España (Blanco, 2004)	54
Francia (Brun-Buisson, 2004)	35
Gran Bretaña (Padkin, 2003)	47
USA (Angus, 2001)	34,5

La mortalidad a largo plazo de la sepsis ha sido poco estudiada; la mayoría de los estudios se centran en la mortalidad a corto plazo, habitualmente la mortalidad hospitalaria o la mortalidad a los 28 o 30 días; sin embargo, se ha visto que aproximadamente una cuarta parte de los enfermos con sepsis que fallecen lo hacen después de los 30 primeros días, como consecuencia del uso de medidas agresivas de soporte vital, por lo que es necesario evaluar la mortalidad del episodio de sepsis al menos al alta hospitalaria, e incluso más allá, quizá a los 90 días (Brun-Bruissson, 2000). En estudios a largo plazo se ha puesto de manifiesto que los supervivientes de un episodio de sepsis tienen una esperanza de vida significativamente más corta que los enfermos hospitalizados por otros motivos, incluso teniendo en cuenta la presencia de comorbilidades (Quartin et al. 2003).

La carga económica que supone la asistencia de los enfermos con sepsis grave es muy elevada. En un estudio retrospectivo de cohortes realizado entre 1991 y 2000 se incluyeron más de 16.000 pacientes hospitalizados con sepsis grave, de los cuales el 81,2% tenían 65 años o más (Weicker et al. 2003). La mortalidad hospitalaria fue del 21,2%, la mortalidad al año del 51,4% y a los 5 años del 74,2%. El coste de la atención médica fue del 44.600 \$ durante el ingreso hospitalario inicial, de 78.500 \$ al año y de 118.000 \$ a los 5 años; la mayor parte de estos costes correspondieron a coste de hospitalización.

Se ha publicado una extensión revisión sobre la relación del foco de infección y los microorganismos causantes y la mortalidad de la sepsis (Cohen et al. 2004); se incluyeron en el análisis más de 50.000 episodios de infección, encontrándose diferencias notables en la mortalidad de los seis principales focos de infección: bacteriemia, meningitis, neumonía, infecciones de piel y tejidos blandos, peritonitis e infecciones urinarias. Se encontró una

interacción significativa entre foco de infección y microorganismos causales, que deben tenerse ambos en cuenta como factores con influencia pronóstica.

1.2.2. La calidad y la seguridad de la medicina intensiva en España

El objetivo de la medicina intensiva es ofrecer a los enfermos críticos una asistencia sanitaria ajustada a sus necesidades, de calidad y de la manera más segura posible, constituyendo uno de los principales componentes de los sistemas sanitarios modernos. Además, es un recurso con una demanda creciente y que conlleva un gasto sanitario elevado.

En Estados Unidos, se considera que más de la mitad de la población ingresará en una unidad de cuidados intensivos (UCI) a lo largo de su vida y que un porcentaje importante fallecerá en estas unidades, consumiendo entre el 0,5 y el 1% del producto interior bruto del país ²⁴. Los hospitales actuales con tendencia a reducir de forma significativa las camas disponibles han incrementado en los últimos años la actividad de la medicina intensiva. Esta actividad no sólo se ha consolidado en las unidades clásicas, sino que se ha extendido fuera de sus paredes a otras áreas, con objetivos claramente preventivos, como los equipos de emergencias médicas o el control de los pacientes poscríticos.

La calidad asistencial ha ido paulatinamente situándose en el centro angular de la atención sanitaria, alcanzando en los últimos años un mayor protagonismo la seguridad del paciente como una de las dimensiones clave de la calidad.

En el caso de la medicina intensiva, este interés es todavía más evidente, no sólo por su impacto social y económico, sino porque algunas de las dimensiones de la calidad cobran en el enfermo crítico un significado más intenso: pacientes más vulnerables, accesibilidad limitada, equidad en la distribución de recursos, evidencia científica escasa, eficiencia limitada.

La calidad asistencial puede definirse como «el grado en que los servicios prestados a un individuo y a la población aumentan la probabilidad de obtener resultados de salud deseables y coherentes con el conocimiento actual de los profesionales». O de forma más simple, la evaluación de la calidad reflejaría la discordancia entre los resultados que se deberían conseguir y los que verdaderamente se alcanzan.

Se define la calidad de la asistencia sanitaria como aquella que es segura, adecuada, efectiva, eficiente, accesible, sigue los principios de justicia y está centrada en el enfermo ²⁶. Aunque el objetivo final de la medicina es cubrir las necesidades médicas del enfermo, debe considerar, a la vez, las expectativas de la familia y de sus allegados, de los profesionales, de las instituciones y de la sociedad en general.

Desde hace algo más de 30 años la medicina intensiva en España es una especialidad que ha permitido mejorar la atención del enfermo crítico. Durante estos años se han producido cambios importantes en el manejo de estos pacientes, introduciéndose avances científicos y tecnológicos especialmente en la monitorización y en el soporte de la disfunción orgánica. Ello ha llevado, sin lugar a dudas, a mejorar la efectividad de la medicina actual, cobrándose como precio hacerla también menos segura y más peligrosa.

En palabras de Chantler, «La medicina ha pasado de ser simple, poco efectiva y relativamente segura a convertirse en compleja, efectiva pero potencialmente peligrosa». La medicina intensiva es el máximo exponente de ello. El reto en los próximos años debe ser moldear la efectividad de la medicina intensiva con el resto de las dimensiones de la calidad, y en el caso de que la seguridad entre en conflicto con alguna de ellas, priorizarla para cumplir el aforismo hipocrático «lo primero, no dañar».

Hemos aprendido que, en ocasiones, los tratamientos intensivos más agresivos pueden dañar más que beneficiar, y el principio minimalista «menos es más» sería aplicable en medicina intensiva a conceptos tales como la sedación, el volumen corriente

en el síndrome de distrés respiratorio agudo, la transfusión de hemoderivados o el control estricto de las glucemias.

En los servicios de medicina intensiva, la gravedad del enfermo crítico, las barreras de comunicación, la realización de un número elevado de actividades por paciente y día, la práctica de procedimientos diagnósticos y tratamientos invasivos, la cantidad y complejidad de la información utilizada, los traspasos y la necesidad del trabajo en equipo, entre otros, convierten a estas unidades en áreas de riesgo para la aparición de eventos adversos. Dichos eventos no solo constituyen un riesgo para los enfermos, sino que, además, representan un coste económico adicional, dañan a las instituciones y a los profesionales y erosionan la confianza de los enfermos en el sistema sanitario.

Durante todos estos años, la preocupación de los profesionales del enfermo crítico en la mejora de la calidad y en la evaluación de sus resultados ha sido evidente. En ocasiones, ha surgido como iniciativas locales o individuales, en otros casos, amparadas en el paraguas de una sociedad científica, la Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC), que ha apostado por posicionar la especialidad como modelo de referencia para otros países. Así, la SEMICYUC ha liderado a través de sus juntas directivas y, de forma multidisciplinaria, de sus grupos de trabajo, el desarrollo de políticas de calidad y seguridad del paciente, concretándose en actividades específicas en el ámbito de la investigación y la docencia. En sus estatutos recoge, como su fin principal, mejorar la salud de la población, cooperando en la prevención de los procesos críticos con mayor incidencia en la salud pública. Su código ético reconoce la importancia de los principios bioéticos en la práctica de la especialidad, promoviendo la calidad asistencial en todos los ámbitos y haciendo referencia específica a aspectos relacionados con los límites de la asistencia sanitaria y la gestión de recursos . La medicina intensiva española, consciente de la importancia del respeto cuidados al final de la vida, ha

publicado recomendaciones relacionadas con el consentimiento informado , la limitación del tratamiento de soporte vital, las instrucciones previas o voluntades anticipadas, la adecuación de los cuidados al final de la vida, la confidencialidad o los conflictos éticos en la reanimación cardiopulmonar.

La acreditación y estandarización de la estructura y de los procesos constituyen una herramienta fundamental para la mejora de la calidad. El INSALUD elaboró una guía en 1997, en colaboración con la SEMIUC (en la actualidad SEMICYUC), para la coordinación, evaluación y gestión de los servicios de medicina intensiva. Recientemente, la SEMICYUC ha colaborado con el Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad (MSPSI) en la elaboración del informe «Estándares y recomendaciones para las unidades de cuidados intensivos», cuyo objetivo es establecer los criterios para la organización y gestión de estas unidades, contribuyendo a la mejora en las condiciones de seguridad y calidad de su práctica, en las múltiples dimensiones que la calidad tiene, incluyendo la eficiencia en la prestación de los servicios, así como para su diseño y equipamiento.

Hasta hace poco tiempo los sistemas sanitarios no se han centrado en la medida de la calidad. En muchas ocasiones, no se dispone de información fiable que permita evaluar un proceso y en el caso de que exista, no siempre está accesible para los gestores y mucho menos para los profesionales.

Ello hace que sea difícil monitorizar de forma efectiva la calidad y la seguridad, responder a la pregunta «¿con qué frecuencia los pacientes reciben los cuidados adecuados?» o comprobar si ciertas iniciativas en la mejora de la calidad resultan efectivas. Los sistemas de monitorización permiten medir y evaluar de forma periódica y planificada aspectos relevantes de la asistencia mediante el uso de indicadores de calidad, que conforman la unidad básica de un sistema de control. Los indicadores de calidad son instrumentos de medida que indican la presencia de un fenómeno o suceso y su

intensidad, y deben ser fiables, objetivos, aceptables, relevantes y basados en la evidencia. La finalidad de la monitorización es identificar problemas o situaciones de mejora potencial o bien desviaciones de la práctica estandarizada.

Los indicadores actúan como señales de alarma que advierten de esta posibilidad. La SEMICYUC ha utilizado dicha metodología elaborando indicadores de calidad y monitorizando algunos de ellos de forma prospectiva.

En breve, esperamos disponer de una versión actualizada de estos indicadores en un intento de ajustarlos a la evidencia científica disponible. Datos preliminares de esta revisión ponen de manifiesto la necesidad de que los indicadores sean dinámicos, teniendo en cuenta que la calidad de la evidencia científica es todavía más controvertida en medicina intensiva que en otras especialidades. Se pretende disponer de un soporte electrónico que facilite su monitorización.

Asimismo, se ha considerado la incorporación de alguno de ellos en los sistemas de información para la gestión que se están implantando de forma progresiva en las unidades. Estos indicadores han sido referidos por otras sociedades científicas y se han publicado en la página web de la ESCIM. En la actualidad la SEMICYUC está colaborando en el proyecto Safety Task Force con el objetivo de definir indicadores consensuados que permitan, junto con otras herramientas, evaluar la calidad y la seguridad en las UCI europeas. De forma más específica, en el ámbito de la cardiología crítica, el Grupo ARIAM (Análisis de los Retrasos en el diagnóstico de los Infartos Agudos de Miocardio) ha elaborado un mapa de 27 indicadores para medir la calidad de la asistencia prestada a los pacientes con síndrome coronario agudo. Se incluyen indicadores de proceso técnicos, farmacológicos e indicadores de resultado.

Los sistemas de registro constituyen una potente herramienta para evaluar las características de una determinada población, de la asistencia realizada y de su

efectividad. La utilidad de los registros ha sido ampliamente demostrada en aspectos de gran trascendencia como la planificación sanitaria, el análisis de la utilización de las tecnologías sanitarias, la evolución de la calidad de los servicios sanitarios y en investigación tanto clínica como epidemiológica. En medicina intensiva existen importantes antecedentes de cómo estos sistemas de registro han permitido disponer de información válida y precisa para analizar datos epidemiológicos referentes a determinadas poblaciones de pacientes. Por otro lado, constituyen una herramienta para la mejora de la calidad al permitir evaluar y comparar tanto la calidad de los procesos en una institución a lo largo del tiempo como entre diferentes hospitales. Así, registros como el ENVIN (Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial en Servicios de Medicina Intensiva) y el ARIAM, con un ya largo recorrido, se han integrado como parte de la actividad en muchas UCI de nuestro país. Otra iniciativa más reciente, como el registro de gripe A de la SEMICYUC, ha permitido disponer de información actualizada sobre una enfermedad emergente con repercusiones clínicas desconocidas y adaptar los recursos a las necesidades de cada momento. En el año 2010, se ha puesto en marcha una plataforma de registros SEMICYUC que permitirá disponer de información sobre la calidad de diferentes procesos asistenciales, asegurando el cumplimiento de los requisitos éticos y legales de un sistema de registro. En la actualidad ya se han incorporado los registros ARIAM y RECCMI (Registro Español de Cirugía Cardíaca) y se tiene previsto incorporar de forma progresiva otros como el de la muerte encefálica, la parada cardíaca o la hipotermia terapéutica en la parada cardíaca.

En el marco de las múltiples iniciativas institucionales para la promoción de la seguridad del paciente desarrolladas en los últimos años, la Declaración de Viena, liderada por la ESCIM, y a la que se adhirió la SEMICYUC, junto con otras sociedades científicas,

adquiere el compromiso de los profesionales del enfermo crítico en la mejora de la calidad y seguridad de la asistencia prestada a estos pacientes.

Consciente de ello, la SEMICYUC ha apostado por desarrollar líneas estratégicas dirigidas a disminuir el riesgo asistencial.

El proyecto Seguridad y Riesgo en el Enfermo Crítico (SYREC), liderado por el Grupo de Trabajo de Gestión, Organización y Planificación, es un ejemplo de ello. Sus objetivos principales: difundir la cultura sobre seguridad, formar a los profesionales del paciente crítico en esta disciplina, fomentar la notificación de incidentes e investigar la epidemiología de los eventos adversos; todo ello con el fin de promover la seguridad en el enfermo crítico. El estudio Incidentes y eventos adversos en medicina intensiva, financiado por la Agencia de Calidad (AC) del MSPSI a través de un convenio de colaboración, es el estudio más ambicioso realizado en nuestro entorno y permite un diagnóstico de situación de la mayoría de las UCI de nuestro país, respondiendo de forma efectiva a la pregunta ¿Cuánto dañamos a nuestros pacientes? Los eventos adversos son frecuentes en nuestras unidades, y muchos de ellos son evitables. Estos resultados permiten disponer de información real y específica que debería contribuir a mejorar la práctica asistencial.

El Plan de Formación en Seguridad del Enfermo Crítico, del Proyecto SYREC, tiene como objetivo proporcionar formación en seguridad a los profesionales de los SMI mediante un sistema docente que contempla diferentes niveles de titulación (diplomado, monitor e instructor) y crear una estructura operativa que abarque todo el territorio español y garantice la consecución de los objetivos en seguridad del enfermo crítico. Hasta la fecha, financiados por la AC del MSPSI, se han realizado dos cursos avanzados y un curso básico, permitiendo la formación de más de un centenar de profesionales en esta área. La investigación clínica en seguridad del paciente y la formación de los profesionales

implicados son, sin duda, la clave para mejorar la cultura de la seguridad y hacer de nuestras unidades lugares más seguros.

A la luz de los resultados de una primera encuesta publicada recientemente, sobre una medida del contexto, la cultura de seguridad en nuestras unidades es todavía insuficiente pero existen fortalezas que pueden favorecer la puesta en marcha de iniciativas que potencien la comunicación segura de información y la comunicación y el análisis de problemas de seguridad.

Uno de los problemas principales de la medicina actual es el desajuste existente entre lo que la evidencia científica de alta calidad establece como indicado y su aplicación real en la práctica clínica. En Estados Unidos, un estudio ya clásico demostró que los pacientes recibían sólo el 50% de los cuidados médicos indicados. Parece que estemos más preocupados y motivados por disponer de nuevas evidencias que de incorporarlas después al quehacer diario. Así sólo el 14% de los nuevos descubrimientos científicos se convierten en prácticas clínicas sistemáticas y para ello se requiere un promedio de 17 años. La traslación del conocimiento pretende, a través de diferentes metodologías, disminuir este tipo de errores por omisión, facilitando a los profesionales herramientas que ayuden a la aplicación clínica de la evidencia científica. Un ejemplo de ello sería el estudio Edusepsis, liderado por la SEMICYUC, el cual, a través de un programa educativo y de trabajo en equipo, ha conseguido implantar las guías de la campaña «Sobrevivir a la sepsis», mejorando no sólo la adherencia de las medidas recomendadas, sino la mortalidad de estos pacientes.

La infección asociada a la atención sanitaria constituye uno de los principales problemas relacionados con la seguridad del paciente. Podríamos considerar los sistemas de vigilancia de la infección nosocomial como un ejemplo de cómo se deberían monitorizar los eventos adversos. El uso de definiciones consensuadas, la recogida sistemática de

información, la explotación y la difusión de los datos son elementos esenciales en la gestión de este tipo de incidentes.

El proyecto Bacteriemia Zero (BZ), desarrollado por el MSPSI en colaboración con la SEMICYUC, es otra de las iniciativas en la mejora de la seguridad con resultados excelentes, en la que han colaborado muchas de las UCI españolas y donde el trabajo interdisciplinario ha dado sus frutos. El proyecto ha combinado un paquete de medidas específicas para prevenir las bacteriemias relacionadas con catéteres vasculares con la aplicación y desarrollo de un conjunto de medidas de seguridad integral. Los resultados muestran una disminución de la tasa de dicha infección en más del 50%, así como aceptables adhesión y aplicación de las herramientas incluidas en el paquete de seguridad. Desde hace unos meses la SEMICYUC ha puesto en marcha el proyecto Neumonía Zero, cuyo objetivo es reducir, utilizando metodología similar y la estructura creada con el proyecto BZ, la incidencia de la neumonía asociada a ventilación mecánica (NVM). Se propone aplicar un paquete de recomendaciones (obligatorias y optativas) para prevenir las NVM (disminuir la tasa nacional a menos de 8 episodios por 1.000 días de ventilación mecánica) y fortalecer el desarrollo de las herramientas de seguridad en el entorno del paciente crítico.

La competencia profesional constituye uno de los requisitos básicos para asegurar la calidad de la asistencia en cualquiera de los ámbitos de la medicina. La medicina intensiva española goza de un programa formativo específico que permite adquirir las competencias necesarias para la atención del enfermo crítico. De la misma manera, la SEMICYUC ha participado en el proyecto «Capacitación basada en competencias en medicina intensiva en Europa» (CoBaTriCe), liderado por la ESCIM, que pretende armonizar la formación en medicina intensiva en el mundo, garantizando un estándar común de competencia clínica. La simulación clínica como herramienta de aprendizaje y de

evaluación de competencias se ha incorporado en los últimos años y parece ser efectiva para la mejora de la seguridad del paciente.

Recientemente la SEMICYUC ha realizado, de forma conjunta con la fundación IAVANTE, una evaluación clínica objetiva estructurada (ECO) en medicina intensiva para evaluar las competencias contenidas en el mapa específico de la especialidad.

Estos son algunos ejemplos de cómo la calidad y la seguridad en la atención del paciente forman parte de los valores reales de una sociedad científica, que recientemente ha visto reconocida su labor, al recibir el Premio a la Excelencia en Calidad en la categoría de Sociedades Científicas.

Dicho galardón, otorgado por la Fundación Avedis Donabedian, es fruto del trabajo de muchos profesionales de la medicina intensiva española que, con su esfuerzo diario, tratan de alcanzar la excelencia en el ejercicio de su profesión y una sociedad científica comprometida que vela por ello.

Aunque es mucho el trabajo realizado y los logros obtenidos, es necesario mantener el espíritu de mejora, dirigiendo los esfuerzos especialmente a áreas menos desarrolladas, tales como el trabajo en equipo, la mejora de la comunicación, la participación del paciente o la cultura de la responsabilidad.

1.3. ETIOLOGÍA:

Básicamente la sepsis se pone en marcha cuando unos activadores procedentes de los microorganismos patógenos o de sus productos desencadenan estímulos celulares y humorales que, bien directamente o bien a través de citocinas y otros mediadores producen unos efectos biológicos que se traducen en efectos clínicos. Estos activadores son globalmente llamados en la actualidad comportamientos moleculares asociados a patógeno o PAMP (pathogen-associated molecular patterns) y los mecanismos que ponen en marcha pueden diferir dependiendo del germen causal²⁷

El shock séptico puede estar producido por casi todos los microorganismos, bacterias, micobacterias, protozoos, hongos y virus, incluso excepcionalmente el de la inmunodeficiencia humana, pero las bacterias son las más frecuentes.

Para el desarrollo de la sepsis no es esencial la invasión de la corriente sanguínea por los microorganismos, junto con la existencia de hemocultivos positivos, pues la diseminación por todo el organismo de moléculas o toxinas microbianas que actúan como señales también puede despertar la misma respuesta.

La sepsis o el shock séptico puede ocurrir en pacientes sin enfermedades de base. En estos casos, microorganismos de elevada virulencia, como el meningococo, suelen ser los responsables, o de forma alternativa, la sepsis puede ocurrir durante infecciones tratadas inadecuadamente. Sin embargo, la mayoría de los casos de sepsis ocurren en pacientes cuyas condiciones basales los hacen más susceptibles a las infecciones, como lesiones de barreras anatómicas (cirugía, politraumatizados, grandes quemados,...), neoplasias, insuficiencia hepática o renal, diabetes mellitus, esplenectomizados, adictos a drogas por vía parenteral (ADVP), SIDA y quimioterapia.

La mayoría de las sepsis se asocian a procesos de bacteriemia (28). Hay varios tipos de bacteriemias:

1.3.1. Bacteriema adquirida en la comunidad

La etiología de las bacteriemias de adquisición comunitaria con criterios estrictos muestra un predominio de las bacterias gramnegativas (68%) sobre las grampositivas (31%). Por microorganismos son los más comunes *Escherichia coli* (49%), *Streptococcus pneumoniae* (9%) y *Staphylococcus aureus* (7%) . Les siguen a distancia, *Salmonella nontyphi* (4%), y *Neisseria meningitidis* (2,5%)⁰.

El origen más frecuente de la bacteriemia es la infección del tracto urinario (46-53%), seguido de la neumonía (12-27%) y de la infección intraabdominal (4-9%). Aproximadamente el 9% son de origen desconocido.

La mortalidad cruda de la bacteriemia adquirida en la comunidad varía entre el 11-16%. La gravedad de la situación clínica al diagnóstico es el factor pronóstico más importante. La mortalidad de los pacientes con sepsis es del 4% mientras que la de los pacientes con sepsis grave y con shock séptico es del 32 y 78%, respectivamente. La diabetes mellitus fue un factor independiente de mal pronóstico en un estudio²⁸.

A los problemas de resistencia ya conocidos de los microorganismos característicos de la comunidad han venido a sumarse la aparición de bacteriemias por *E. coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y por *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM)²⁸ .

1.3.2. Bacteriemia asociada a cuidados sanitarios

En esta categoría se incluyen las bacteriemias secundarias a un procedimiento diagnóstico o terapéutico realizado de forma ambulatoria, las bacteriemias en pacientes ambulatorios portadores de sondas urinarias y catéteres vasculares (CV), las bacteriemias en pacientes en hemodiálisis crónica y en diálisis peritoneal y las bacteriemias en pacientes ingresados en residencias de ancianos y en centros de larga estancia. Con esta reciente clasificación el 39% de las bacteriemias hasta ahora consideradas como comunitarias serían reclasificadas como asociadas a cuidados sanitarios ya que son más parecidas a las de adquisición nosocomial.

Etiológicamente predominan las bacterias gramnegativas (64%) y por microorganismos son *E. coli* (25%), *S. aureus* (15%) y *Klebsiella pneumoniae* (9%) los que con mayor frecuencia causan bacteriemia. La proporción de SARM es elevada (19-32%), especialmente en los pacientes procedentes de centros de larga estancia. Las bacteriemias del grupo *Proteus-Morganella-Providencia*, relacionadas con focos de origen en tracto urinario (sondas vesicales) y piel o tejidos blandos (úlceras de decúbito) son también frecuentes. La mortalidad oscila entre el 20 y el 24%^o.

1.3.3. Bacteriemia nosocomial

La incidencia de la bacteriemia nosocomial se estima en 6 episodios/1.000 ingresos²⁹. Las bacterias grampositivas son las predominantes (65%), y por microorganismos, estafilococos coagulasa negativa (ECN) (31%), *S. aureus* (20%) y *Enterococcus* spp. (9%) son los más comunes²⁸.

La etiología y el patrón de sensibilidad de las bacteriemias nosocomiales muestran grandes diferencias entre centros e incluso entre áreas de un mismo hospital, por lo que el conocimiento de la epidemiología local es imprescindible para la selección del tratamiento

antimicrobiano empírico. Se recomienda que, en cada centro, el Servicio de Microbiología realice y distribuya informes estratificados por áreas y por servicios del hospital, con la frecuencia y la sensibilidad de los microorganismos aislados en los hemocultivos

El origen más común de la bacteriemia nosocomial es el Catéter Vascular (14-52%), seguido de la infección del tracto urinario (18-39%), la neumonía (10-16%), y la infección intraabdominal (9-13%). La bacteriemia es de origen desconocido en el 16% de los casos²⁸.

La mortalidad global es del 27-37% con amplias diferencias según la etiología que van desde el 21% para los pacientes con bacteriemia por ECN hasta el 39% para la bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida* spp²⁸.

Los procesos diferenciados por el tipo de ingreso son:

1.3.4. Bacteriemia en pacientes ingresados en cuidados intensivos

La incidencia de bacteriemia es muy elevada en estos pacientes. Predominan los cocos grampositivos, como ECN (36-47%), *S. aureus* (13-16%), y *Enterococcus* spp. (8-10%).

Entre las bacterias gramnegativas destacan microorganismos multirresistentes como *Acinetobacter baumannii* (6%), *Enterobacter* spp. (5%) y *P. aeruginosa* (4-5%). La tasa de de candidemia se encuentra en el 2-9%.

Los factores de riesgo para la bacteriemia por SARM en esta población de pacientes son el estado de portador nasal de SARM y la presencia de Catéter Vascular (CV). El origen más común de la bacteriemia es el CV (57%), seguido del respiratorio (21%), intraabdominal (10%) y urinario (5%)^o.

1.3.5. Bacteriemia en pacientes con catéter vascular

Según los datos del sistema de vigilancia de infección nosocomial de Estados Unidos (NNIS) la incidencia de bacteriemia relacionada con CV oscila entre 2,9 y 9,7 episodios/ 1.000 días de CV. Los CV centrales (CVC) originan el 75% de estas bacteriemias, y constituyen el factor de riesgo más importante de la candidemia nosocomial ²⁸.

En el perfil microbiológico de la bacteriemia relacionada con catéter destacan los ECN (~ 30%), seguidos de *S. aureus* (18-20%), enterobacterias (~ 15%), *P. aeruginosa* (8-10%) y *Candida* spp. (5-7%) ²⁸.

1.3.6. Bacteriemia en pacientes quirúrgicos

La incidencia y la etiología de la bacteriemia postoperatoria dependen principalmente del tipo de cirugía y de su localización. Se estima que la incidencia es de 5,4 episodios/ 1.000 ingresos en servicios quirúrgicos y de 6,4/1.000 intervenciones.

Los agentes etiológicos más frecuentes son los ECN (16%), seguidos de *S. aureus* (15%), *E. coli* (11%), especies de *Pseudomonas* (9,5%), *Enterococcus* (7%), anaerobios (5%) y *Candida* (1%). La etiología es polimicrobiana en el 13% de los casos ²⁸.

La herida quirúrgica es el segundo origen más frecuente de la bacteriemia tras el CVC. El 9% de los pacientes con infección de la herida quirúrgica desarrollan bacteriemia, en ellos el hecho de que ésta esté causada por *S. aureus* es el principal factor de riesgo para el desarrollo de bacteriemia ²⁸.

1.3.7. Bacteriemia en pacientes con cáncer y neutropenia post-quimioterapia

La incidencia de bacteriemia alcanza hasta el 24% de los episodios de neutropenia febril post-quimioterapia y está directamente relacionada con la intensidad y con la duración de la neutropenia ²⁹.

La etiología de las bacteriemias en estos pacientes muestra un predominio creciente de las bacterias grampositivas (62% en 1995 y 76% en 2000) sobre las gramnegativas, mientras que las bacterias anaerobias estrictas permanecen estables (3%) y los hongos alcanzan en algunas series hasta el 8% de los aislamientos²⁸.

El origen de la bacteriemia es con frecuencia desconocido.

1.3.8. Bacteriemia en grandes quemados

La incidencia de la bacteriemia es muy elevada, especialmente la bacteriemia primaria que alcanza cifras de 17 a 34 episodios/1.000 días de CVC^{16,17}. Tras la escarectomía de la quemadura la bacteriemia transitoria es tan frecuente que aparece en el 30% de los procedimientos cuando se realizan después de los primeros 10 días y en el 100% cuando la superficie quemada supera el 80%. En cambio la bacteriemia es infrecuente cuando la extensión de la quemadura es inferior al 40%.

S. aureus (24%), *P. aeruginosa* (18%), *Acinetobacter* spp. (14%), ECN (12%) y *Candida* spp. (8%) son las etiologías más comunes ²⁸.

1.3.9. Bacteriemias en pacientes en hemodiálisis periódica

La incidencia varía dependiendo del tipo de acceso vascular para la hemodiálisis, que es el origen más común de la bacteriemia. El riesgo de bacteriemia es siete veces superior cuando la hemodiálisis se realiza a través de un catéter vascular que de una

fístula arteriovenosa. La incidencia global de bacteriemia es de 1,2 episodios/1.000 días o 2,9/1.000 hemodiálisis.

En la etiología predominan las bacterias grampositivas (60-90%) y por microorganismos los ECN (10-45%), seguidos de *S. aureus* (3-40%), y *Enterococcus* spp. (2-20%). La mortalidad oscila entre el 8-25%²⁸.

1.3.10. Bacteriemias en receptores de trasplante de órgano sólido y de progenitores hematopoyéticos

Las bacteriemias en los receptores de trasplante de órgano están determinadas por el tipo de órgano trasplantado, por la función del mismo y por el período postrasplante. La frecuencia de bacteriemia es mayor en el trasplante hepático (22-29%), seguida del cardíaco (16%) y del renal (12%). El 50% de las bacteriemias ocurren durante el primer mes postrasplante y presentan un patrón nosocomial.

Predominan ligeramente los cocos grampositivos (44-62%). *S. aureus* se aísla en el 12% de las bacteriemias en el trasplante hepático y en el 13% en el trasplante cardíaco y *P. aeruginosa* en el 4% en el trasplante hepático y 10% en el cardíaco. El órgano trasplantado es el principal origen de la bacteriemia. El tracto urinario en el trasplante renal, la vía biliar en el hepático, el pulmón en el pulmonar y también en el cardíaco. La bacteriemia por *S. aureus* es un factor de riesgo independiente de mortalidad en el trasplante hepático²¹. Pasados los primeros 6-12 meses postrasplante, en los receptores con buena función del injerto, la epidemiología de la bacteriemia se asemeja a la de la población general.

En los receptores de trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) el período de neutropenia y la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH) son los principales factores de riesgo de bacteriemia. La incidencia de bacteriemia es de 21-36 episodios/100

pacientes con TPH. La densidad de incidencia es de 14 episodios/1.000 días de neutropenia.

Predominan las bacterias grampositivas (62-75%) sobre las gramnegativas (15-38%). Los microorganismos más frecuentes son especies de ECN (19-57%), estreptococos, especialmente del grupo *S. viridans* (8-30%), *E. coli* (8-13%), otras enterobacterias (3-13%), *S. aureus* (3-6%) y *P. aeruginosa* (3-5%). La frecuencia de *Candida* spp. se ha reducido con la generalización de la profilaxis entre los alo-TPH. En la fase tardía posprendimiento (> 100 días post-TPH) la bacteriemia suele estar causada por microorganismos capsulados, como *S. pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, y en estrecha relación con la EICH.

1.3.11. Bacteriemias en pacientes con infección por el VIH

La introducción del tratamiento antirretroviral de gran eficacia en 1996 modificó las principales características de la bacteriemia en los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Ahora la bacteriemia es de predominio nosocomial y la etiología muestra una reducción progresiva de las bacterias gramnegativas y de las micobacterias, y un incremento de las grampositivas. Aunque en los pacientes con linfocitos CD4 por debajo de 50 células/mm³ predominan las bacteriemias por *Salmonella* spp. y por *P. aeruginosa*. La etiología de la bacteriemia en los países pobres es muy diferente con predominio de *Salmonella* spp., *S. pneumoniae* y *Mycobacterium tuberculosis*²⁸

Los **focos de sepsis** más frecuentes son el pulmón, tracto urinario, abdomen, piel y tejidos blandos, sistema nervioso central y catéteres intravasculares. Alrededor de la mitad de los pacientes con shock séptico tienen hemocultivo positivo, el resto no puede aislarse posiblemente por exposición previa a antibióticos, por lo escaso del inóculo bacteriano o por dificultades inherentes al microorganismo. En otro 30% puede aislarse el

microorganismo en el foco de sepsis y en cerca de un 20% no se aísla ninguno. (29) En los hemocultivos positivos, se han aislado microorganismos gramnegativos en el 57-64% de los casos, y grampositivos en el 35-40%, con unos pocos casos de infecciones mixtas o fúngicas. En cultivos tomados en los focos origen de la infección la proporción de microorganismos grampositivos y gramnegativos aislados es similar (3/2), pero el número de infecciones mixtas es mucho mayor. En estudios más recientes, el número de casos de sepsis debidos a infecciones fúngicas se ha incrementado, alcanzando una proporción del 5-10% de los casos³⁰.

1.4. FISIOPATOLOGÍA DEL SHOCK SÉPTICO:

1.4.1. Fisiopatología

Durante los años 70 Lewis Thomas popularizó la teoría de que la sepsis es más una incontrolada respuesta defensiva del huésped que un efecto directo de los microorganismos (26). Tal planteamiento cobra fuerza hoy en día una vez que numerosas investigaciones ponen de manifiesto que un gran número de mediadores humorales y de productos celulares están involucrados en esta exagerada respuesta sistémica. El sistema inmune innato es la primera línea de defensa contra la infección y es activado cuando un patógeno cruza las barreras de defensa naturales del huésped. Estas consisten en elementos solubles (vía alterna del sistema de complemento, proteínas de fase aguda, inmunoglobulinas y citoquinas) y elementos celulares (monocitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas y células natural killer)³¹.

El shock séptico tiene una respuesta bastante estereotipada del huésped a la presencia de microorganismos o fragmentos de ellos en el torrente sanguíneo. Los pacientes con shock séptico desarrollan una respuesta inmunológica bifásica³² : La manifestación inicial de la infección consiste en una contundente reacción inflamatoria seguida de un periodo

de inmunodepresión. Investigaciones recientes nos llevan a pensar que la sepsis es consecuencia de una respuesta inmunológica patológica a la infección. En ella están incluidos patógenos, células inmunológicas, epitelio, endotelio y sistema neuroendocrino. Se producen mediadores proinflamatorios que contribuyen a la erradicación de los microorganismos invasores y antiinflamatorios que modulan esta respuesta³²

La inducción de la sepsis se origina por la liberación de la endotoxina o lipopolisacárido (LPS) de las bacterias gramnegativas (G-), del ácido lipoteicoico y peptidoglucanos de las grampositivas (G+), y también de los antígenos víricos o fúngicos (22)

El mejor estudiado es la endotoxina (lipopolisacárido, LPS) constituyente de la pared celular de los bacilos gramnegativos. Otros desencadenantes son péptidos, proteasas y exotoxinas de bacterias gramnegativas y exotoxinas, enterotoxinas, hemolisinas, peptidoglucano y ácido lipoproteico de bacterias grampositivas. Estos productos desencadenan una respuesta del huésped, mediada por células y citocinas, responsable de las manifestaciones clínicas de la sepsis (fiebre, taquicardia, vasodilatación generalizada, lesión celular y fallo multiorgánico)³³. Para ello se unen a proteínas transportadoras como la proteína unida a la endotoxina (LPB) para llegar a receptores celulares como el CD14, receptor para la endotoxina en monocitos, macrófagos y neutrófilos. El estímulo induce la síntesis y secreción de citocinas, fundamentalmente: factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 1-beta (IL-1 β) que además de poseer efectos citotóxicos, amplifican la respuesta inflamatoria y transmiten la señal microbiana a otras células y tejidos.

La sepsis iniciada por gramnegativos se desencadena por el lipopolisacárido conocido como endotoxina (LPS). La LPS es vertida a la circulación donde se enfrenta a

una primera línea de sustancias naturales que intentan bloquear la infección: anticuerpos, albúmina, lipoproteínas de alta intensidad (HDL) y BPI (bactericidal permeability increasing protein) expresada por polimorfonucleares (PMN), monocitos/macrófagos (M/M) y eosinófilos y, sobre todo, a través de los receptores de la respuesta del sistema inmune innato expresados por dichas células. Funcionalmente estas proteínas pueden ser divididas en tres clases: segregadas, como las opsoninas, endocíticas y de señal. La mejor estudiada es la lectina unida a manano que, al unirse a los carbohidratos microbianos, inicia la vía de la lectina para la activación del complemento. La LPS que continúa circulante se une a la LBP (lipopolysaccharide binding protein) que es una proteína producida por el hígado. Este complejo va a unirse a los receptores de la pared celular CD14 (fundamentalmente de los macrófagos) iniciándose la secuencia de la señal intracelular a través del complejo TLR4, y la proteína MD-2. En las células donde no existen receptores CD14 (como en las células endoteliales, células dendríticas, fibroblastos, células del músculo liso), esta cascada se inicia uniéndose el complejo LPS-LBP a CD14 soluble circulante en el plasma. Existen otros receptores de la pared celular que reconocen a la LPS como el MSR (macrophage scavenger receptor), canales de K⁺, y los receptores CD11/CD18. El CD14 está unido a la membrana por un anclaje glicosil-fosfatidil-inositol que carece de dominio transmembrana, ello se obvia por proteínas identificadas como receptores tipo portazgo tolllike receptors (TLR) que inician la vía de señales que implica al factor nuclear kappa-B (NF-κB) y a la subsiguiente transcripción genética²⁷.

Las toxinas activan proteínas reguladoras como el factor reguladorio transcripcional (NF-κB) que controla la expresión de numerosos genes inflamatorios. El TNF-α y la IL-1β estimulan la secreción de IL-6, IL-8 y otros mediadores inflamatorios como leucotrienos, tromboxanos, prostaglandinas, factor activador plaquetario (PAF) y complemento³⁴.

El óxido nítrico (NO) parece un mediador fundamental en esta fase, en la que las citocinas estimulan la sintetasa inducible del NO (iNOS), con una liberación masiva a partir de células endoteliales, células musculares lisas y macrófagos (responsable de la elevación de nitratos y nitritos característica del shock séptico). La reacción entre el NO y los radicales superóxido produce peroxinitrito, que origina lesión celular directa. Los efectos del NO liberado en grandes cantidades son vasodilatación generalizada, lesión celular, aumento de la permeabilidad capilar y depresión miocárdica³⁵.

Otro fenómeno crucial en la sepsis grave es la expresión de moléculas de adhesión entre los neutrófilos y las células endoteliales, que induce su adhesión al endotelio con una posterior migración extravascular para formar abscesos. El complejo selectina-integrina del neutrófilo CD11/CD18 y sus estructuras recíprocas en el endotelio las moléculas de adhesión ICAM-1 e ICAM-2 se encuentran expresadas en exceso en el shock séptico. Las células endoteliales también expresan factor tisular, bajo el estímulo del lipopolisacárido (LPS), el TNF- α y la IL-1 β . Este activa la vía extrínseca de la coagulación, produciendo el depósito de fibrina en el interior de los vasos y presentándose la coagulación intravascular diseminada^{36 37}.

Las consecuencias fisiopatológicas de esta cascada de acontecimientos se ven centradas por la disminución de las resistencias vasculares periféricas (acción mediada de manera fundamental por el NO), que conduce a la disminución del tono arterial y venoso con hipotensión acusada, descenso de la presión venosa central (PVC) en una primera fase. La inflamación capilar, con lesión endotelial y aumento de la permeabilidad capilar, se complica por el depósito de fibrina en la microcirculación, y el resultado es una hipoperfusión generalizada que lleva a la disfunción multiorgánica .

Además de los mediadores inflamatorios (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ , IL-2, IL-6 e IL-8), se liberan mediadores antiinflamatorios (IL-1ra, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13), factores de estimulación de colonias, receptores solubles del TNF, antagonistas de los receptores de la IL-1 y prostaglandina E2, así como corticosteroides endógenos y catecolaminas. Estas sustancias modifican la respuesta inmune inicial, induciendo un periodo de inmunodepresión, que se manifiesta por el descenso del antígeno de histocompatibilidad tipo II en los monocitos (antígeno de presentación), así como un descenso en la sensibilidad de los monocitos al estímulo inflamatorio. La respuesta final depende del predominio de los factores proinflamatorios o de los antiinflamatorios; si predominan los inflamatorios, la sepsis evoluciona a shock, muerte celular programada (apoptosis) y disfunción orgánica; si predominan los antiinflamatorios, se presenta una inmunoparálisis depresión del sistema inmune. De manera obvia, el mejor de los casos es el de la homeostasis, en el que ambos sistemas están balanceados y actúan conjuntamente.

Tabla V Citoquinas en la sepsis

Citocinas	
Proinflamatorias	Antiinflamatorias
TNF- α (factor necrosis de tumoral α)	IL-1ra (Antagonista del receptor) de la IL-1)
IL-1 (Interleukina 1)	IL-4 (Interleukina 4)
IL-2 (Interleukina 2)	IL-6 (Interleukina 6)
IL-8 (Interleukina 8)	IL-10 (Interleukina 10)
IL-12 (Interleukina 12)	IL-11 (Interleukina 11)
IL-18 (Interleukina 18)	IL-13 (Interleukina 13)
IFN- γ	TGF- β (Factor de crecimiento tumoral

Además de la activación de las citoquinas, la respuesta inflamatoria a la sepsis incluye:

1. Activación de la cadena de proteínas plasmáticas
2. Sistema del complemento: su activación estimula la adhesión y degranulación de los polimorfonucleares con producción de radicales libres.
3. Coagulación:
 - a. Aumento de la expresión del factor tisular (FT) e inicio de la vía extrínseca de la coagulación generando trombina.
 - b. Disminución de sustancias anticoagulantes: como la antitrombina III y proteína C activada. Disminución de la capacidad fibrinolítica por acción directa del TNF e IL-1 al reducir ambos la actividad del activador tisular del plasminógeno (TPA), y estimulando la expresión endotelial del inhibidor 1 del plasminógeno activado (PAI-1) y del inhibidor de la fibrinólisis activado por la trombina (TAFI).
4. Activación de mediadores lipídicos:
 - a. Factor activador de las plaquetas (PAF), potente vasodilatador aunque en el lecho vascular pulmonar, renal y coronario provoca vasoconstricción. Incrementa la permeabilidad vascular, estimula la adhesividad y la activación plaquetaria, de los neutrófilos y su degranulación con la liberación consiguiente de leucotrienos y producción de superóxido.
 - b. Eicosanoides: prostaglandinas (PGE), tromboxanos (TXA) y leucotrienos. Actúan localmente en diferentes órganos. La PGE₂ es un potente vasodilatador que contribuye a

los fenómenos hipotensivos de la sepsis. El TXA2 es un potente vasoconstrictor que actúa a nivel pulmonar al mismo tiempo que potencia la agregación plaquetaria y la formación de microtrombos.

5. Activación de la vía del óxido nítrico (NO). El NO está implicado en la hipotensión y en la depresión miocárdica propia de la sepsis.

6. Producción de radicales libres (RLO). Se producen por la degranulación de los PMN y por metabolismo de los eicosanoides. Los RLO actúan:

a. Causando lesión en la membrana celular por degradación de los lípidos y proteínas (incluyendo el ADN).

b. Produciendo alteraciones en la deformabilidad eritrocitaria perjudicando a la circulación y aumentando los déficits tisulares de perfusión.

c. Induciendo un aumento de la permeabilidad del endotelio que contribuye al edema³⁸.

1.4.2. Citocinas anti-inflamatorias.

Actualmente se consideran las citocinas anti-inflamatorias más importantes a la IL-10, IL-4, IL-6, IL-13, el factor estimulante de colonia granulocito –macrófago (FEC-GM), el IFN-alfa y el factor beta transformante del crecimiento (FβTC) por el rol que desempeñan en la etiopatogenia de la sepsis. Merece destacarse que diversas citocinas ejercen un papel dual en los procesos sépticos y se comportan como pro-inflamatoria o antiinflamatoria en lo que influyen los siguientes factores:

1. La cantidad de citocinas presentes.
2. La naturaleza de las células dianas.
3. El tipo de agente desencadenante que actúa en las células diana.

4. El periodo de tiempo de exposición a las células diana.

5. El modelo experimental utilizado.

1.4.2.1. Interleucina -10 (IL-10)

Esta fue la primera citocina anti-inflamatoria evaluada clínicamente para su aplicación terapéutica en la sepsis. Inicialmente se le identificó como un producto de las células T auxiliaoras del tipo 2 de los ratones, las cuales inhiben la producción de las citocinas pro-inflamatorias por las células auxiliaoras del tipo 1 tanto en ratones como en humanos. La IL-10 ejerce sus acciones anti-inflamatorias sobre los monocitos/macrófagos, los neutrófilos y en los linfocitos T como señalamos inicialmente y produce inhibición de la mortalidad en la endotoxemia experimental³⁹. En concordancia con lo anterior se ha demostrado que los ratones deficientes en IL-10 son mucho más vulnerables a la mortalidad inducida por lipopolisacárido (LPS),⁷ mientras que Fretland y cols (39) demostraron una mortalidad incrementada, cuando la IL-10 endógena fue bloqueada por anticuerpos monoclonales anti-IL-10. Sin embargo, Remick y cols⁴⁰ reportaron que la IL-10 administrada en un modelo de sepsis experimental inducido por punción y ligadura del ciego en ratones, no redujo la mortalidad ni la morbilidad en la sepsis polimicrobiana, la cual parece ser provocada por un efecto inmunodepresor de la IL-10 que explica porque la infección persiste en los animales sépticos aunque se les administre una terapia a priori con antibióticos.

La experiencia con la administración de la IL-10 a humanos ha estado limitada a la endotoxemia experimental inducida en voluntarios sanos, 10 en los que el pretratamiento con la IL-10 redujo los incrementos inducidos por la endotoxina en la temperatura corporal y en los niveles pico de FNTalfa, la IL-6, IL-8 y el antagonista de IL-1, cuando se les comparó con el grupo placebo. También se detectó una disminución de la acumulación

de neutrófilos en el pulmón. Sin embargo, cuando el tratamiento con IL-10 fue posterior a la administración de la endotoxina, la respuesta febril, la liberación de citocinas y la acumulación de los neutrófilos no fueron modificadas. Un comportamiento similar de la IL-10 se observó con relación a los parámetros hemodinámicos (frecuencia cardíaca y presión arterial) que tampoco fueron modificadas con la administración de IL-10 después de la endotoxina.

1.4.2.2. Interleucina -6 (IL-6)

La IL-6 es una citocina con propiedades pro-inflamatorias y alcanza altos niveles en sangre que están asociados con la severidad y un mal pronóstico ¹¹ en los procesos sépticos. Sin embargo puede también es considerada como una citosina anti-inflamatoria ya que tiene una potente capacidad para inducir la liberación de proteínas de fase aguda que ejercen un efecto beneficioso en la sepsis y el choque séptico.

1.4.2.3. Factor Beta transformante del crecimiento (FβTC)

El FβTC es otra citocina anti-inflamatoria que ha sido evaluada para su posible uso terapéutico en la sepsis y el choque séptico. Incrementos significativos en los niveles de esta citocina se han detectado en pacientes con sepsis cuando se les compara con los controles sanos. Sin embargo, los niveles pico detectados en el curso de la enfermedad no se correlacionan marcadamente con el pronóstico, aunque los experimentos en modelos animales han sugerido su posible utilidad Sitio Argentino de Producción Animal 4 de 10 terapéutica en la sepsis. Se evaluó FβTC en un modelo de choque séptico en ratas inducido por LPS de salmonella typhosa demostrando que el tratamiento con FβTC produjo reversión de la hipotensión inducida por la endotoxina e incremento la sobrevivencia, demostrando además, que el FβTC inhibe la óxido nítrico sintasa inducible vinculando por tanto, el efecto hipotensor con el óxido nítrico (ON). Las ratas tratadas con

FβTC también tuvieron un significativo incremento de la supervivencia en comparación con los controles. Estos resultados apoyan la realización de ensayos clínicos controlados que esclarezcan la posible utilidad del FβTC en el tratamiento de pacientes con sepsis y choque séptico.

1.4.2.4. Interleucina-4 (IL-4)

Al igual que sucede con la IL-10, la IL-4 también posee actividad antiinflamatoria potente y tiene la capacidad de inhibir la síntesis de las citocinas pro-inflamatorias y se ha demostrado que es capaz de reducir la mortalidad en varios modelos de choque séptico o endotóxico. Todos los ratones pretratados con IL-4 sobrevivieron a una inyección intraperitoneal (i.p) de de E coli viva (10^7 unidades formadoras de colonia (UFC) y de bacteroides fragilis (10^9 UFC), las cuales mataron al 90 % de los ratones no pretratados con la citocina. Sin embargo, también se demostró que mientras el pretratamiento con IL-4 anterior a la inducción e la sepsis tuvo efecto protector, una incrementada mortalidad fue observada cuando la IL-4 se administró durante el período de la infección, lo cual argumenta la importancia de seleccionar el período de tiempo y el momento más adecuado de su administración para producir el efecto deseado (en este caso, reducir la mortalidad) y además ilustra cómo influye este importante factor en el comportamiento dual (efectividad o carencia de efecto) de cada una de las diversas citocinas en los procesos sépticos⁴⁰.

1.4.2.5. Interleucina -13 (IL-13)

Esta citocina comparte muchas acciones con la IL-4 y ejerció protección en ratones a los que se les inyectó una LD 90 de LPS. Por el contrario, el bloqueo de la IL-13 con anticuerpos anti-IL-13 redujo la supervivencia de los ratones con peritonitis e incrementó el daño tisular provocado⁴⁰, lo cual estuvo asociado con la expresión de otras quimiocinas.

Este hecho nos permite sugerir que a pesar de la ausencia de niveles detectables de IL-4 e IL-13 en la circulación sanguínea, estas citocinas pudieran estar involucradas en el control de la liberación excesiva de las citocinas proinflamatorias.

1.4.2.6. Factor estimulante de colonia granulocitos /macrófagos. (FEC-GM)

Esta citocina es producida por los macrófagos, los monocitos y las células endoteliales en respuesta a estímulos diversos. El FEC-GM ejerce también efectos importantes relacionados con la proliferación, diferenciación y el proceso de maduración de los leucocitos polimorfonucleares. También incrementa las funciones del neutrófilo tales como la quimiotaxis, la fagocitosis y la acción bactericida. Sin embargo, aunque estas propiedades del FEC-GM son beneficiosas y mejoran las defensas del hospedero contra la infección, los neutrófilos activados pueden también producir efectos nocivos a través de la producción de especies reactivas del oxígeno y de nitrógeno entre otros mediadores de daño orgánico. En contraste con esos efectos nocivos, numerosos estudios sobre el FECGM reportan sus propiedades beneficiosas. Por ejemplo se ha demostrado que disminuye la endotoxemia y mejora la sobrevivencia en la neumonía por estafilococo dorado y reduce la sepsis por heridas y quemaduras. Cuando FEC-GM se administra en combinación con antibióticos puede impedir las complicaciones infecciosas severas en modelos de peritonitis en ratones. 26 Además cuando el FEC-GM se administra con la IL-11 recombinante humana a animales con neutropenia, se produce un efecto aditivo entre ambos que se manifiesta en una reducción notable de la mortalidad en un modelo de sepsis inducido por bacterias gram negativas.

Filgrastim es el FEC-G recombinante humano producido en *E. coli* registrado y comercialmente disponible y que se está utilizando con éxito en el tratamiento y

prevención de la neutropenia en el cáncer y en pacientes con SIDA. Su capacidad para incrementar las funciones del neutrófilo ha constituido el fundamento para investigar este fármaco en la sepsis y el choque séptico. Villa y cols evaluaron FEC-G + antibiótico en un modelo de sepsis polimicrobiana inducida por punción y ligadura del ciego en ratones , comenzando el tratamiento 3 días antes de la acción quirúrgica y observaron un incremento significativo de la supervivencia de los ratones tratados con respecto a los tratados solo con antibiótico o con solución salina 28 utilizando un modelo similar reportaron reducción de la mortalidad con FEC-GM cuando el tratamiento había comenzado 4 horas después de la inducción de la sepsis por perforación cecal. Sin embargo, ninguna protección adicional fue lograda administrando FEC-G, 1 día o 7 días previos a la inducción de la sepsis⁴¹. El tratamiento con FEC-G disminuyó los niveles de FNT-alfa, endotoxina y lactato en suero.

Estudios realizados en modelos de sepsis en animales mayores (cerdos inoculados con *P. aeruginosa*) han demostrado también efectos beneficiosos con el tratamiento con FEC-G mejorando la supervivencia con relación al grupo placebo. Los cerdos tratados con FEC-G tuvieron además menos fiebre y una mejor respuesta hemodinámica lo que se acompañó de la reducción del FNT- alfa y de los niveles de endotoxina en suero⁴¹. Un estudio realizado en perros Beagle con neumonía inducida por *E. coli* mostraron resultados semejantes a los descritos en cerdos. Es de destacar que la sobreexpresión de estas citocinas anti-inflamatorias características del síndrome de respuesta anti-inflamatorio compensatoria (SRAC) conllevan al llamado estado de inmunoparálisis del sistema inmune defensivo del organismo, el cual no responde y el paciente se hace susceptible a infecciones nosocomiales, esto contribuye a la muerte del paciente en una fase tardía⁴¹

1.4.3. Interacciones entre componentes de la pared celular bacteriana y el sistema humoral de defensa.

Componentes de la pared celular bacteriana pueden activar directamente el sistema del complemento, la cascada de la coagulación/fibrinólisis y el sistema de kalicreína/bradicinina. Estos sistemas humorales también pueden ser activados indirectamente, como veremos más adelante, como consecuencia de la acción de los sistemas celulares de defensa.

Tanto la vía clásica como la alternativa del complemento pueden ser activadas por LPS y por componentes de la pared celular de las bacterias grampositivas. (42) La vía clásica es activada principalmente por complejos formados por componentes de la pared celular y anticuerpos, mientras que la vía alternativa es activada a través de interacciones directas con componentes de la pared celular. Las anafilotoxinas C_{3a} y C_{5a} , producidas como resultado de la activación de estas vías, inducen vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular, dando lugar a cambios hemodinámicos y agregación plaquetaria. Además, C_{5a} es un potente agente quimiotáctico que provoca agregación y activación de PMN. Un incremento en la concentración de mediadores activados del complemento se ha relacionado con evolución fatal en casos de shock séptico⁴³.

La cascada de la coagulación juega un papel central, conocido desde hace tiempo, en la patogénesis del shock séptico. El sistema de contacto es activado directamente cuando el factor XII (factor Hageman) entra en contacto con superficies cargadas negativamente, como los residuos de peptidoglicano y ácido teicoico procedentes de la pared celular de gérmenes grampositivos, o los LPS de los bacilos gramnegativos.⁴⁴ Como resultado, se produce factor tisular por la vía intrínseca de la coagulación, así como por las células endoteliales y por los macrófagos. La activación del factor tisular, sucesivamente

inducirá la activación de la vía extrínseca de la coagulación. La activación de estas vías conduce a la activación de la fibrinólisis, con consumo de factores de la coagulación y desarrollo de CID⁴⁵.

Finalmente, la activación del sistema de contacto tiene como resultado la conversión de prekalicreína en kalicreína. Posteriormente la kalicreína actuando sobre el cininógeno de alto peso molecular, dará lugar a la bradicinina, un potente agente hipotensor que, como el C_{3a} y C_{5a}, provoca vasodilatación e incremento de la permeabilidad capilar. La salida de líquidos al espacio intersticial puede ser una característica fundamental de la sepsis y del shock séptico.

La activación inmunitaria

Numerosos genes son activados durante una respuesta inmune sistémica en una persona gravemente enferma o con shock séptico. Los estudios en voluntarios humanos sanos que recibieron dosis bajas de endotoxina han identificado más de 4.500 genes activados, la mayoría de los cuales están involucrados en la respuesta inmune innata o adaptativa.

La activación simultánea de esta cantidad de genes se facilita por factores de transcripción de señales citoplasmáticas preformados que sirven como mediadores de respuesta rápida a las lesiones y la infección. El Factor nuclear kappa B (NF-κB) es un factor de transcripción que juega un papel central en la activación y regulación de múltiples genes que controlan la respuesta inmune y las reacciones inflamatorias. El NF-κB está significativamente elevado en adultos y niños con sepsis. El NF-κB es también un factor de transcripción sensible a redox altamente capaz de ser activado por bajos niveles de H₂O₂ y se ha propuesto como un biomarcador de estrés oxidativo. Esto sugiere que

los altos niveles de H₂O₂ pueden estar involucrados en la activación inapropiada de NF-κB que se observa en shock séptico.

Un papel central para el sistema inmune innato es sugerido por la infiltración neutrofílica en múltiples órganos observadas en el shock séptico .. H₂O₂ es un potente quimio-atrayente de células neutrofílicas y puede establecer un gradiente quimiotáctico, ya que se difunde fuera del parénquima las células en la microvasculatura adyacente. Los Neutrófilos circulantes pueden rastrear este gradiente de H₂O₂ y entrar en el órgano parénquima través diapedesis. El resultado neto es la infiltración de neutrófilos en el parénquima de múltiples órganos.

1.4.4. Papel del sistema celular de defensa.

Los monocitos, las células endoteliales y los PMN juegan un papel principal en la patogénesis de la sepsis y el shock séptico.

1.4.4.1. Monocitos.

Las células monocíticas juegan, al menos, dos papeles distintos en la sepsis. En primer lugar, es bien conocido su papel como células fagocíticas: Son capaces de destruir y eliminar bacterias y productos bacterianos. Más recientemente se demostró su capacidad para producir potentes mediadores de la inflamación así como varias citocinas. Diversas citocinas son producidas no sólo por estas células, sino también por linfocitos, células endoteliales y otras células estimuladas por productos bacterianos. Las citocinas pro-inflamatorias son cruciales en la regulación de las defensas del huésped contra la infección, pero su sobreproducción puede inducir una excesiva estimulación de la cascada inflamatoria, que será la responsable del cuadro clínico del shock séptico. Las células monocíticas pueden ser estimuladas por varios componentes bacterianos, tanto de bacterias grampositivas como gramnegativas⁴³. Los mecanismos de estimulación por LPS

han sido extensamente estudiados. LPS puede interactuar con los monocitos después de su unión con una proteína de fase aguda denominada proteína de unión a LPS (LPB)⁴⁸. El complejo LPS-LPB es un ligando para los receptores CD14 de los monocitos y los PMN⁴⁹. Por otro lado, una forma soluble del receptor CD14 en suero se ha mostrado capaz de inducir la unión de LPS a las células endoteliales y estimular en ellas la producción de citocinas y la adhesión de moléculas^{50 51}.

De entre las citocinas pro-inflamatorias producidas por los monocitos, el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) es considerado como un mediador central de los cambios fisiopatológicos asociados con la sepsis. Otras citocinas se han considerado también mediadores fundamentales en estos estados; es el caso de la interleucina-1 (IL-1), antes denominada pirógeno endógeno⁵². El TNF- α y la IL-1 ejercen efectos biológicos pleiotrópicos y sinérgicos⁵³. Ambos pueden activar varias líneas celulares (monocitos, PMN, linfocitos B y T, hepatocitos); incrementar la adherencia a las células endoteliales; inducir la síntesis de factores estimuladores de colonias, IL-6, IL-8, ciclooxigenasa; y producir un efecto pirógeno endógeno, lipólisis y caquexia, son algunos de sus efectos. Los niveles circulantes de IL-1, así como los de TNF- α , se encuentran elevados en los estados de shock séptico⁵⁴.

La IL-6 es una citocina producida por células linfoides y no linfoides en respuesta a variados estímulos, incluyendo LPS, TNF- α e IL-1. La IL-6 juega un papel principal en la mediación de la respuesta inflamatoria e inmunológica frente a la infección. Entre sus efectos biológicos, la IL-6 intensifica la producción de proteínas hepáticas de fase aguda, incrementa la producción de células hematopoyéticas, estimula la diferenciación de los linfocitos B y la secreción de anticuerpos, e induce elevación de la temperatura corporal. Niveles elevados de IL-6 se han correlacionado con muerte en pacientes con shock séptico⁵⁵.

Durante la sepsis, determinados mecanismos anti-inflamatorios son puestos en marcha en un intento de controlar la intensidad de la respuesta inflamatoria. Por ejemplo el denominado IL-1ra ,antagonista específico de los receptores de IL-1, compite con este por su unión a dichos receptores; la IL-10 inhibe la proliferación de los linfocitos T-helper y la producción de otras citocinas (como la IL-1, IL-6 y el TNF- α) y disminuye la expresión de las moléculas del HLA de clase II en los monocitos.

1.4.4.2. PMN.

Los PMN activados, son un importante elemento en la respuesta inflamatoria, probablemente juegan un papel principal en la patogénesis del shock séptico mediante su contribución al daño vascular y tisular. Fuertes evidencias indican que los PMN pueden ser activados directamente por LPS, o indirectamente a través de la acción de citocinas⁵⁶. Como resultado, los PMN activados pueden causar daño tisular mediante la liberación de radicales libres de oxígeno y enzimas lisosomiales, o provocando microembolias tras su agregación. Los leucocitos activados son capaces de adherirse unos a otros, así como a células endoteliales y a los tejidos, a través de su unión a moléculas de adhesión específicas.

1.4.4.3. Células endoteliales.

La célula endotelial es una de las principales células diana de los mediadores inflamatorios. La disfunción orgánica inducida por la sepsis grave es consecuencia de la alteración del endotelio por:

1º. Incremento de permeabilidad capilar.

2º. Alteración de la adhesión leucocitaria al influir sobre:

a) Selectinas o moléculas de adhesión leucocitaria endotelial (ELAM) responsables de la adherencia inicial y diapedésis intravascular de leucocitos;

b) Integrinas CD11a/CD18 y CD11b/CD18 responsables de la migración transendotelial de los polimorfonucleares;

c) Moléculas de adhesión intercelular (ICAM)y de adhesión de la célula vascular (VCAM).

3º. Alteración del tono vascular (vasodilatación periférica), como consecuencia de la liberación por las células endoteliales de óxido nítrico, potente vasodilatador que actúa como mediador del shock séptico.

4º. Modificación de la coagulación, favoreciendo el predominio procoagulante y antifibrinolítico (coagulación intravascular diseminada).

Es un hecho ampliamente reconocido que el endotelio vascular es blanco para la acción de variados mediadores inflamatorios y, a la vez, un importante productor de mediadores activos. La activación de las células endoteliales parece ser mediada por la forma soluble del CD14 que uniéndose al complejo LPS-LPB interactuaría con moléculas de superficie no totalmente conocidas⁵⁹. Por otro lado, se ha constatado como la administración intravenosa de altas dosis de TNF- α o IL-1 a animales de experimentación tiene efectos sistémicos sobre las células endoteliales que conducen a hipotensión, descenso de las resistencias vasculares periféricas, aumento de la permeabilidad vascular e infiltración tisular de PMN. TNF- α y la IL-1 intensifican la expresión de moléculas de adhesión a las células endoteliales, facilitando la migración de PMN. TNF- α y la IL-1 incrementan la actividad procoagulante del endotelio y deprimen la expresión de la actividad fibrinolítica, dando como resultado una tendencia a la coagulación intravascular⁵⁷

1.4.5. Otros mediadores producidos por células activadas.

Otros factores humorales se hayan implicados como mediadores en el shock séptico, entre los cuales parecen jugar un papel importante el factor activador de plaquetas (PAF), el óxido nítrico (NO) y los metabolitos del ácido araquidónico.

El PAF es producido por macrófagos, PMN, plaquetas y células endoteliales en respuesta a la agresión. Se trata de un potente fosfolípido mediador de la inflamación que amplifica la respuesta mediada por citocinas. Niveles aumentados de PAF se han encontrado en modelos experimentales de hipotensión inducida por endotoxinas y daño pulmonar inducido por endotoxinas en ratas⁶⁰.

El NO es un potente vasodilatador fisiológico esencial para la regulación del flujo y la presión sanguínea. Es sintetizado por una enzima calcio/calmodulin dependiente en las células endoteliales, la NO sintetasa. Junto a esta enzima constitutiva, hay una isoforma calcio/calmodulin independiente denominada NO sintetasa inducible (iNOS), que se ha encontrado en células endoteliales y otras muchas células. La iNOS puede ser inducida por LPS y varias citocinas como el TNF- α y la IL-1. El NO parece, sin duda, implicado en la fisiopatología de la sepsis por su efecto inhibitor de la adhesión plaquetaria, la activación de leucocitos y su efecto vasodilatador responsable fundamental de la hipotensión que caracteriza al shock séptico.

Finalmente, es bien conocido que los metabolitos del ácido araquidónico causan vasodilatación, agregación plaquetaria y activación de neutrófilos, lo cual puede contribuir a la patogénesis del shock séptico. Estas sustancias se han encontrado incrementadas en pacientes con shock séptico⁶¹.

1.4.6. Alteraciones hemodinámicas.

Alteraciones del tono vascular periférico y de la función cardiaca contribuyen a las manifestaciones del shock séptico. La frecuencia y la fracción de eyección cardiaca comúnmente se encuentran elevados. Las resistencias vasculares sistémicas son bajas debido al descenso del tono arteriolar, mientras que la resistencia vascular pulmonar está elevada, lo que ocasiona una elevación de la presión arterial pulmonar. A pesar del incremento de la fracción de eyección cardiaca, la hipoperfusión tisular se evidencia por la elevación de la concentración de lactato en sangre, con una extracción de oxígeno por debajo del máximo.

El descenso del tono vascular afecta tanto al sistema arterial como venoso. El tono arteriolar está descendido, lo que induce hipotensión sistémica. El descenso del tono venoso en los vasos de gran capacidad conduce a éstasis venoso. Estos cambios son generalmente más evidentes en áreas de inflamación activa. Los cambios en el tono arteriolar y venoso varían entre los distintos lechos vasculares, dando como resultado una mala distribución del flujo y el volumen sanguíneo. Además se produce una disminución de la sensibilidad vascular a las catecolaminas debido al aumento de la concentración circulante de sustancias vasodilatadoras y la disminución de la sensibilidad de los receptores α -adrenérgicos⁶¹.

Los cambios a nivel microvascular limitan el flujo sanguíneo de nutrientes durante el shock séptico. Estudios experimentales han demostrado una disminución del calibre capilar durante la sepsis severa⁶³. El descenso de la hiperemia reactiva observado en pacientes con shock séptico es congruente con estas observaciones⁶⁴. La óxido-nítrico sintetasa constitutiva, que en condiciones normales mantiene el tono vascular y promueve el flujo microvascular, se encuentra disminuida en el shock séptico. La

disminución de la deformabilidad de eritrocitos y neutrófilos dificulta el paso de estas células a través de los capilares lo que provoca obstrucción vascular ⁶⁵. La tumefacción de las células endoteliales, el depósito de fibrina, el incremento de la adherencia de los neutrófilos al endotelio y el incremento de la agregación de neutrófilos, plaquetas y eritrocitos son algunos de los cambios observados en estos casos. Algunos shunts arteriovenosos pueden abrirse obviando algunos lechos capilares.

La hipovolemia es el principal factor que contribuye a la inestabilidad hemodinámica inicial en el shock séptico. Tanto en modelos experimentales como en pacientes se ha demostrado un descenso de la presión de llenado ventricular así como del volumen de eyección en etapas precoces del shock séptico. El volumen de eyección aumenta (estado circulatorio hiperdinámico), solamente tras la repleción de fluidos. Varios factores contribuyen a la hipovolemia. El descenso del tono venoso con el consiguiente incremento de la capacidad venosa, conduce a éstasis venoso con descenso del retorno venoso efectivo. La disminución del volumen sanguíneo intravascular también es debido al aumento de la permeabilidad microvascular con creación de un tercer espacio.

La mayoría de los pacientes con shock séptico presentan una disfunción miocárdica, que implica tanto al ventrículo izquierdo como al derecho. Se ha demostrado un descenso de la compliance miocárdica con subsiguiente dilatación cardiaca. La perfusión coronaria así como el consumo miocárdico de oxígeno son, no obstante, normales durante el shock séptico.¹⁶ Sustancias depresoras directas del miocardio parecen jugar un importante papel en la disfunción miocárdica observada en el shock séptico, habiéndose identificado al óxido nítrico, el TNF- α y la IL-1 como algunos de estos factores depresores potenciales.¹⁷ La hipertensión pulmonar y el aumento de sensibilidad de los receptores B-adrenérgicos son otros factores que pueden deprimir la función cardiaca en el shock séptico⁶⁶.

1.4.7. Metabolismo del oxígeno.

Los mecanismos que alteran el metabolismo del oxígeno a nivel tisular en el shock séptico son complejos. Algunos pacientes presentan un descenso en el volumen de salida cardiaco (estado circulatorio hipodinámico), el principal mecanismo que limita el metabolismo oxidativo es el descenso en el flujo sanguíneo sistémico. En la mayoría de pacientes, sin embargo, el deterioro del metabolismo oxidativo parece relacionarse con la incapacidad tisular para extraer la máxima cantidad de oxígeno de la sangre. En contraste con lo que ocurre en el shock cardiogénico, en el que el metabolismo anaerobio manifestado por la acidosis láctica ocurre solamente después de la máxima desaturación de oxígeno venoso, el metabolismo anaerobio en pacientes con shock séptico ocurre a pesar de una saturación de oxígeno venoso casi normal. Durante el shock séptico, las concentraciones de lactato pueden incrementarse levemente, lo que refleja alteraciones en el flujo de piruvato y el descenso en la actividad de la piruvato-deshidrogenasa, antes que la hipoperfusión.

Las anomalías distributivas del flujo sanguíneo sistémico y a nivel de la microcirculación que ocurren durante el shock séptico, limitan la extracción efectiva de oxígeno y conducen a hipoperfusión a nivel regional. Estudios experimentales muestran la existencia de una extracción de oxígeno defectuosa junto con incremento en los requerimientos de oxígeno, debiendo mantener el mismo grado de consumo de oxígeno ⁶⁷. Clínicamente, la hipoperfusión regional de la circulación esplácnica se manifiesta por el descenso del pH intramucoso gástrico y la desaturación de oxígeno venoso a nivel hepático en pacientes con circulación hiperdinámica ⁶⁸. De forma similar, la respuesta debilitada a la hiperemia reactiva en pacientes con shock séptico revela anomalías microvasculares que limitan la perfusión tisular efectiva ⁶⁹.

El daño orgánico mediado por toxinas que ocurre independientemente de la hipoperfusión tisular puede también deteriorar el metabolismo oxidativo celular. Varios mediadores que juegan un papel prominente en el shock séptico, como endotoxinas, óxido nítrico y el TNF- α , pueden causar daño celular directo. En algunos modelos experimentales de shock séptico, se han encontrado anormalidades del metabolismo oxidativo sin evidencia de hipoperfusión sistémica. De forma similar, el fracaso para aumentar el consumo total de oxígeno a nivel sistémico y aclarar el lactato sanguíneo a pesar del incremento del aporte de oxígeno puede reflejar un metabolismo oxidativo deteriorado en pacientes con shock séptico ⁷¹.

1.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

1.5.1. Cuadro clínico

El shock séptico aparece generalmente en pacientes inmunodeprimidos, ancianos, o pacientes sometidos a procedimientos en los que pueda suceder una significativa contaminación bacteriana. El shock séptico es también una causa principal de muerte en niños.

Las manifestaciones de la sepsis son el resultado de una excesiva respuesta del huésped a agentes infecciosos no controlada por inhibidores naturales. Aunque los mecanismos de defensa naturales son beneficiosos y dirigidos a neutralizar microorganismos invasores, eliminar desechos celulares y reparar tejidos, su actividad excesiva puede ser perjudicial.

En pacientes sépticos, con una temperatura elevada o disminuida ($> 38 / < 36$ °C), taquipneico y taquicárdico, ocasionalmente puede presentar un rash cutáneo generalizado, con importante debilidad de forma global, hipotenso (TAS < 90 mmHg) y frecuentemente

con un estado mental alterado (confusión, agitación, estupor, coma...) por lo que éstas van a ser las manifestaciones fundamentales:

- Temperatura elevada/disminuida.
- Debilidad generalizada.
- Taquipneico.
- Alteración del estado mental.
- Taquicárdico.
- Hipotenso.
- Rash cutáneo (ocasionalmente).

El diagnóstico de SIRS, sepsis, sepsis grave y shock séptico sigue siendo clínico. No hay ningún marcador biológico con la suficiente sensibilidad y especificidad para establecer un diagnóstico definitivo.

De los marcadores estudiados (tabla VI) la procalcitonina (PCT) y proteína C reactiva (PCR) son los más estudiados en la clínica. La PCR es un reactante de fase aguda que presenta gran sensibilidad pero baja especificidad y se altera en múltiples procesos aparte de los infecciosos. La PCT es la molécula que mayor sensibilidad y especificidad ha demostrado en la sepsis, no aumenta en las infecciones localizadas o en las generalizadas que no sean bacterianas, su respuesta es inmediata y su vida media de aproximadamente 24 horas. No se eleva en los procesos que no son de origen infeccioso y, por tanto, es útil ante episodios de distress respiratorio o shock ya que diferenciará aquellos que son de origen séptico. En series de sepsis graves la PCR mostró una sensibilidad del 78% y una especificidad del 57% mientras que para la PCT fueron del 61% y 94%, respectivamente, para unos puntos de corte de 25 ng/ml en la PCR y de 1 ng/ml en la PCT.

Tabla VI. Marcadores de sepsis

<p>Recuento leucocitario.</p> <p>Proteína C reactiva.</p> <p>Citocinas (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10).</p> <p>Procalcitonina.</p> <p>Proteína amiloide sérica.</p> <p>Neopeptina.</p> <p>Elastasa granulocítica.</p> <p>Fosfolipasa A-2.</p> <p>Endotelina-1.</p> <p>Nitratos/nitritos.</p> <p>P-selectina/E-selectina.</p> <p>Prolactina.</p> <p>Lactoferrina.</p>
--

Los parámetros más objetivables son los que definen el propio estado de sepsis (variables inflamatorias como leucocitos o leucopenia, desviación izquierda, aumento de procalcitonina o PCR...) y los parámetros de perfusión, entre ellos tensión arterial media (TAM), niveles de lactato y saturación venosa de O₂ (SVO₂):

— TAM: definida como: $TAS - 2 \cdot TAD/3$. En un paciente séptico suele encontrarse < 60 mmHg y resulta más fiable que la TAS.

— LACTATO: es un indicador no sólo de hipoperfusión tisular sino también un demostrado predictor de mortalidad. Sus valores en la sepsis suelen estar por encima de 2

mmol/l. Su tendencia (en aumento o en disminución) es mejor parámetro predictivo que un valor aislado.

— SVO₂: es un indicador del balance entre transporte y consumo de O₂. Depende de los valores de CO, Hb y SO₂. En pacientes críticos su valor es del 70%.

1.5.2. Pruebas complementarias

— Hemograma: habitualmente encontraremos leucocitosis con desviación izquierda o leucopenia (esta última indica mayor gravedad).

— Bioquímica: frecuentemente con aumento de urea y creatinina, patrón de colestasis y trastornos electrolíticos. Elevación de lactato.

— Gasometría arterial: inicialmente alcalosis metabólica, apareciendo posteriormente acidosis metabólica con aumento de los niveles de lactato. Si existe síndrome de distress respiratorio del adulto encontraremos hipoxia severa.

— Coagulación: trombopenia y posteriormente desarrollo de coagulación intravascular diseminada (CID).

— Hemocultivos y urocultivos además de tinción de Gram y cultivo de secreciones sospechosas en busca del microorganismo etiológico. Se deben obtener un mínimo de dos cultivos de sangre; si crece el mismo microorganismo en ambos cultivos la posibilidad de que el germen sea el causante de la infección se refuerza.

— Punción lumbar: cuando sospechemos infección del SNC (especialmente importante en ancianos o pacientes con demencia y síndrome febril sin claro foco de origen).

— Radiología de tórax, abdomen y senos paranasales, para demostrar presencia de infección a dichos niveles.

- Ecografía y/o TAC abdominal: en busca de abscesos intraabdominales.
- Ecocardiograma: si se sospecha la presencia de endocarditis.

Taquipnea, taquicardia y alteraciones en el estado mental son manifestaciones tempranas de la sepsis severa, frecuentemente preceden a la fiebre y la hipotensión. Trombocitopenia aislada, sin evidencia de coagulación intravascular diseminada, se observa en más del 50% de los pacientes con shock séptico. Otras complicaciones frecuentes incluyen coléctasis intrahepática y síndrome de distrés respiratorio agudo que aparecen en el 30-50% de pacientes. La neutropenia, hipotermia y encefalopatía son signos que se suelen asociar a casos con pobres resultados. La mayoría de los pacientes son resucitados de forma satisfactoria inicialmente. En aquellos pacientes que fallecen, el 25-33% muere como consecuencia de la hipotensión refractaria que no puede ser estabilizada con la infusión de fluidos y la terapia farmacológica. Menos del 5% de las muertes se relacionan con fallo cardíaco. La mayoría de los pacientes que no se recuperan inicialmente fallecen más tarde. Estas muertes pueden relacionarse con la disfunción orgánica que ocurre durante el fracaso circulatorio agudo o con el fracaso multiorgánico asociado a las infecciones nosocomiales y sus enfermedades de base.

1.5.3. Repercusiones en el ámbito cerebral: encefalopatía asociada a la sepsis.

El concepto de encefalopatía séptica sigue siendo un diagnóstico de exclusión en el contexto del síndrome séptico⁷² Se trata de una disfunción reversible del SNC con recuperación completa clínica y neurofisiológica al superar la agresión⁷³. No es bien conocida la incidencia de la misma y se admite que su presencia se asocia con una elevada mortalidad⁷⁴.

El desarrollo de complicaciones neurológicas en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) supone un aumento significativo del riesgo de mortalidad intrahospitalaria en comparación con los enfermos que no presentan estas alteraciones, así como un aumento de la estancia hospitalaria ⁷⁵ De todas ellas, la encefalopatía metabólica fue la más frecuente y la encefalopatía asociada a la sepsis, la etiología más común siendo considerada como un componente más del síndrome de fracaso multiorgánico (FMO) ⁷⁶.

1.5.3.1. -Fisiopatología de la encefalopatía séptica:

El conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la encefalopatía séptica es muy limitado y se basa fundamentalmente en modelos experimentales ya que son escasos los datos obtenidos en seres humanos, existiendo además observaciones contradictorias. Existen diferentes hipótesis fisiopatológicas:

Alteraciones en la barrera hematoencefálica:

En animales, se ha comprobado que existen alteraciones que radican en un trastorno del transporte competitivo de aminoácidos a nivel de la barrera hematoencefálica (BHE) ⁷⁷.

Modificaciones del patrón de aminoácidos plasmáticos:

Las alteraciones en el aminograma plasmático pueden ser uno de los factores que intervengan en esta disfunción del SNC al igual que ocurre en la encefalopatía hepática.

El patrón de aminoácidos en plasma en la sepsis se caracteriza por un incremento de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina, triptófano) y los sulfurados

(taurina, cisteína, metionina), y por descenso de los de cadena ramificada (valina, leucina, isoleucina) ^{78 79}.

Patrón de aminoácidos a nivel cerebral:

Se ha demostrado un aumento de los aminoácidos aromáticos en el SNC, posiblemente relacionado con el aumento de los mismos a nivel plasmático y por alteración en el transporte de los mismos a nivel de la BHE secundario al descenso plasmático de dichos aminoácidos ramificados ⁸⁰.

Papel de los neurotransmisores cerebrales:

Varios aminoácidos son precursores de neurotransmisores: triptófano, tirosina y fenilalanina. Se ha observado:

- Aumento de las concentraciones de triptófano, ácido 5-hidroxiindolacético y serotonina con aumento del turnover de esta última, lo cual puede influir en la inhibición del comportamiento y de la actividad motora vista en la encefalopatía séptica ⁸¹.
- Reducción de neurotransmisores catecolamínicos: norepinefrina, ácido 3-4 dihidroxifenilacético y ácido homovanílico.
- La alta concentración de tirosina y fenilalanina puede incrementar sus productos decarboxilados: tiramina y feniletilamina. Los productos beta-hidroxilados de estas sustancias, especialmente la octopamina que en los pacientes sépticos se encuentran aumentados sus niveles plasmáticos ⁸², son débiles o falsos neurotransmisores que desplazan tanto a la norepinefrina como a

la dopamina y epinefrina de las uniones neuronales lo que puede explicar los hallazgos de la encefalopatía séptica⁸³.

- La disfunción cerebral se produce en la configuración de la sepsis, pero sin infección directa del sistema nervioso central. SAE se caracteriza por alteraciones en el estado mental y la actividad motora que puede variar de falta de atención, desorientación y delirio a la agitación, hipoactividad y coma. El delirio es a menudo la primera manifestación de la sepsis y, a menudo precede a la insuficiencia de órganos. SAE se informa que ocurre hasta en el 70% de los pacientes sépticos. Las neuronas son especialmente sensibles al daño oxidativo H_2O_2 inducido. Los estudios han demostrado una concentración muerte celular dependiente a partir de 10 mmol / L cuando las neuronas están expuestas a H_2O_2 . El tripéptido glutatión es críticamente importante con el fin de prevenir el daño oxidativo

La encefalopatía asociada a la Sepsis (SAE) es una alteración difusa del cerebro debido a H_2O_2 . El glutatión se compone de los aminoácidos glicina, cisteína y glutamato. Cisteína es la tasa de limitación de sustrato para el glutatión neuronal síntesis y transulfuración de homocisteína es una importante fuente de cisteína en la mayoría de las células. Sin embargo, en el cerebro la ruta neuronal de transulfuración se piensa que es una fuente insignificante de cisteína debido a la baja actividad en las neuronas de cistationina-gamma-liasa, una importante enzima en la vía que conduce a la trans-sulfuración y la síntesis de cisteína. Las neuronas, por lo tanto, se basan principalmente en la absorción de cisteína extracelular proporcionada por astrocitos para la síntesis de glutatión. Por lo tanto, la la

dependencia de las neuronas cerebrales en cisteína extracelular con el fin de sintetizar glutatión limita seriamente su habilidad de aumentar las defensas antioxidantes en respuesta a H_2O_2 mediada estrés oxidativo. Esto hace que las neuronas del cerebro altamente vulnerables a daño oxidativo y de H_2O_2 disfunción. Esto es consistente con la encefalopatía que se produce después de la ingestión accidental de H_2O_2 . Encefalopatía era también una manifestación después la administración intravenosa de H_2O_2 durante terapia de la medicina alternativa. El principal sitio de interacción de las neuronas y astrocitos es la hendidura sináptica. Los astrocitos exportan glutatión directamente en la hendidura sináptica. Enzimas presentes en la sinapsis liberan cisteína a partir de glutatión después de lo cual la cisteína se transporta en neuronas unida a la membrana EAAT3 transportador (aminoácidos excitatorios transportador de ácido. El H_2O_2 puede reaccionar no enzimáticamente con cisteína en la hendidura sináptica para producir cistina. Esto elimina cisteína a partir de la sinapsis y evita su importación en la neurona que resulta en estrés oxidativo por la disminución de la síntesis de glutatión neuronal. la presencia de tioles (es decir, cisteína) en la hendidura sináptica sugiere que esta región puede funcionar como un sumidero para H_2O_2 , resultando en la interrupción de la transmisión sináptica como resultado de la peroxidación de las membranas celulares sinápticas. Por lo tanto, circulando H_2O_2 impregnan el cerebro durante la inflamatoria sistémica hipermetabólico inicial fase de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) de sepsis e interrumpir la función cerebral en las primeras etapas de la enfermedad. Debido a su limitada capacidad para desintoxicar H_2O_2 las neuronas del cerebro son las primeras células que se verán afectados por H_2O_2 por el estrés oxidativo. Esto es consistente con que la encefalopatía es a menudo el primer signo de la sepsis.

Perfusión y metabolismo cerebral:

Es común en estos enfermos un descenso del flujo sanguíneo cerebral global⁸⁴, sin relación con la tensión arterial media y sin cambios en la reactividad de los vasos sanguíneos cerebrales al CO₂.

Se ha sugerido la alteración en la microcirculación y permeabilidad capilar como causa de disfunción cerebral.³ En un modelo experimental porcino, la endotoxemia se ha demostrado capaz de provocar edema cerebral e hipertensión intracraneal⁸⁵.

Actuación directa sobre el SNC:

- *Microorganismos:* El efecto directo de los microorganismos sobre el SNC es uno de los mecanismos *a priori* más probables. La presencia de microabcesos diseminados en el cerebro ha sido comunicada tras necropsia de enfermos con encefalopatía severa⁸⁶
⁸⁷.
- *Endotoxina:* La endotoxina posee un efecto inhibitor sobre la función mitocondrial: alteraciones en la oxidación y fosforilación, descenso de la síntesis de ATP y reducción del pool del calcio intracelular. Es muy improbable que la endotoxina participe en la encefalopatía séptica ya que en adultos no atraviesa la BHE en suficiente cantidad⁸⁷.
- *Citoquinas:* Es bien conocido que algunos de estos mediadores, especialmente el TNF α y la IL-1 β actúan a nivel del SNC desencadenando fiebre y depresión de las funciones superiores⁸⁸
⁸⁹. Además, se supone que la producción local en el SNC de

citoquinas puede ser otro mecanismo que explique estas alteraciones neurológicas^{90 91}.

1.6. PRINCIPIOS GENERALES DEL DIAGNÓSTICO:

El sistema GRADE clasifica recomendaciones como sólidas (grado 1) o débiles (grado 2). Los factores que influyen en esta determinación se presentan en los criterios siguientes. La designación de solidez o debilidad se considera de mayor importancia clínica que una diferencia en el nivel de letras de la calidad de evidencia. El comité evaluó si los efectos deseables de la adherencia pueden sopesar los efectos no deseables, y la solidez de una recomendación refleja el grado de confianza del grupo en esa evaluación. Por consiguiente, una recomendación sólida a favor de una intervención refleja la opinión del panel de expertos en relación con que los efectos deseables de la adherencia a una recomendación (resultados de salud beneficiosos; menor carga sobre el personal y los pacientes; ahorros en el coste) seguramente sopesarán los efectos no deseables (perjuicios para la salud; mayor carga sobre el personal y los pacientes; y mayores costes).

CRITERIOS PARA EL DIAGNÓSTICO O SEPSIS

Infección, documentada o sospechosa, y los siguientes factores:

Variables generales:

Fiebre (> 38,3°C)

Hipotermia (temperatura base < 36°C)

Frecuencia cardíaca > 90/min o más de dos sd por encima del valor normal según la edad

Taquipnea

Estado mental alterado

Edema importante o equilibrio positivo de fluidos (> 20 mL/kg ml/kg durante más de 24 h)

Hiperglucemia (glucosa en plasma > 140 mg/dL o $7,7$ mmol/l) en ausencia de diabetes

Variables inflamatorias

Leucocitosis (recuento de glóbulos blancos [WBC] $> 12\ 000$ μ L)

Leucopenia (recuento de glóbulos blancos [WBC] $< 4\ 000$ μ L)

Recuento de WBC normal con más del 10% de formas inmaduras

Proteína C reactiva en plasma superior a dos sdpor encima del valor normal

Procalcitonina en plasma superior a dos sd por encima del valor normal

Variables hemodinámicas

Presión arterial sistólica (PAS) < 90 mm Hg, PAM < 70 mm Hg o una disminución de la PAS > 40 mm Hg en adultos o inferior a dos sdpor debajo de lo normal según la edad)

Variables de disfunción orgánica

Hipoxemia arterial ($Pao_2/FIO_2 < 300$)

Oliguria aguda (diuresis $< 0,5$ ml/kg/h durante al menos 2 horas a pesar de una adecuada reanimación con fluidos)

Aumento de creatinina $> 0,5$ mg/dL or $44,2$ $\mu\text{mol/L}$

Anomalías en la coagulación (RIN $> 1,5$ o aPTT > 60 s)

Íleo (ausencia de borborigmos)

Trombocitopenia (recuento de plaquetas $< 100\ 000$ μL)

Hiperbilirrubinemia (bilirrubina total en plasma > 4 mg/dL o 70 $\mu\text{mol/L}$)

Variables de perfusión tisular

Hyperlactatemia (> 1 mmol/L)

Reducción en llenado capilar o moteado

WBC = glóbulo blanco; PAS = presión arterial sistólica; PAM = presión arterial media; RIN = razón internacional normalizada; aPTT = tiempo de tromboplastina parcial activado.

Los criterios para el diagnóstico de sepsis en la población pediátrica son signos y síntomas de inflamación e infección con hipertermia o hipotermia (temperatura rectal $> 38,5^{\circ}\text{C}$ o $< 35^{\circ}\text{C}$), taquicardia (puede no observarse en pacientes hipotérmicos) y al menos alguna de las siguientes indicaciones de función orgánica alterada: estado mental alterado, hipoxemia, aumento del nivel de lactato en suero o pulso saltón.

1.7. RECOMENDACIONES GENERALES DE TRATAMIENTO:

Fundamentalmente la infección debe ser tratada, la perfusión tisular restaurada y la terapia antiinflamatoria debe ser usada en el futuro.

Diversos tratamientos, que en los últimos años eran esperanzadores, actualmente no han demostrado beneficios e incluso en algún caso, perjuicios a medio plazo. Entre ellos se encuentran los corticoides a dosis altas, óxido nítrico, antagonistas de endotoxina A de gram negativos e ibuprofeno.

Los aspectos fundamentales del tratamiento de la sepsis son:

- Controlar el origen de la infección.
- Tratamiento antimicrobiano.
- Soporte hemodinámico.
- Soporte orgánico incluyendo ventilación mecánica y tratamiento de reemplazamiento de la función renal.
- Sedación y analgesia según sea necesario.
- Nutrición adecuada.

Estos aspectos se resumen en tres tipos o pilares del tratamiento:

- Tratamiento sintomático.
- Tratamiento fisiopatológico.
- Tratamiento etiológico.

1.7.1. Tratamiento sintomático

Siempre que exista hipoperfusión inducida por sepsis reflejada por hipotensión y/o acidosis láctica se deben iniciar de inmediato las medidas de soporte vital con expansión de volumen y empleo de drogas vasopresoras.

1.7.1.1. Fluidoterapia

Disponemos de tres tipos básicos de fluidos para la expansión de volumen: cristaloides, coloides y sangre. Dentro de los *cristaloides* (los más usados en estas maniobras de resucitación volémica) se encuentra el suero fisiológico 0,9%, el suero salino hipertónico o el lactato de Ringer. También podremos emplear *coloides*, como la albúmina, el hidroxietil-almidón (Elo-Hes), dextranos o gelatina (Hemoce), aunque en las últimas guías no están indiados. A veces será necesario recurrir a la transfusión de derivados sanguíneos ya sean concentrados de hematíes o de plaquetas. Transfundiremos *hematíes* sólo cuando la cifra de hemoglobina sea < 7 mg/dl para mantener niveles entre 7,0-9,0 mg/dl. Recurriremos a la transfusión de *plaquetas* cuando su cifra sea $< 5.000/\text{mm}^3$, entre 5.000-30.000/ mm^3 si existe riesgo significativo de sangrado y transfundiremos plaquetas para tener una cifra $> 50.000/\text{mm}^3$ si se van a realizar procedimientos invasivos o si existe sangrado activo.

El objetivo es mantener la tensión arterial, pero también la microcirculación y perfusión periférica. Deben mantenerse presiones venosas centrales mínimas de 8-12, pero superiores si el paciente está bajo ventilación mecánica, especialmente con PEEP. Los objetivos terapéuticos usados para la resucitación hemodinámica son controvertidos. La controversia se establece en si se debe fijar el objetivo en parámetros fisiológicos como la perfusión tisular, o en objetivos clínicos como la

presión sanguínea, el gasto cardiaco o la diuresis. Se han sugerido como indicadores de una correcta perfusión tisular, la disminución de las concentraciones de lactato en sangre, la normalización de la perfusión esplácnica (valorada por el aumento del pH intramucosa gástrica) y la existencia de un gasto cardiaco y aporte de oxígeno a nivel sistémico por encima de lo normal^{93 94}. La mayor parte de las intervenciones más ampliamente estudiadas se han dirigido a conseguir un gasto cardiaco por encima de lo normal, y un aumento en el aporte o en el consumo de oxígeno, o ambos.

La resucitación de pacientes con shock séptico requiere el mantenimiento de una adecuada saturación de oxígeno arterial. La mayoría de ellos requerirá intubación y ventilación mecánica debido al excesivo trabajo respiratorio, desarrollo de síndrome de distrés respiratorio o a causa de patología pulmonar previa.

El manejo hemodinámico inicial se basa en la administración de fluidos. La hipovolemia está presente en prácticamente todos los pacientes con shock séptico y generalmente requiere la infusión de gran cantidad de líquido. En los pacientes que no responden a la infusión de líquidos o aquellos con enfermedad cardiaca o renal de base, debe considerarse la cateterización de la arteria pulmonar. La presión de llenado del ventrículo izquierdo óptima durante la resucitación con fluidos debe variar entre 12-15 mmHg, aunque debe valorarse en cada paciente⁹⁴. Cristaloides y coloides son igualmente efectivos en la consecución de los objetivos clínicos. Sin embargo, en aquellos casos en los que se requieren presiones de llenado más altas, los coloides parecen asociarse con una menor incidencia de edema pulmonar⁹⁵. Otro beneficio potencial de la administración de líquidos puede ser la disminución de la respuesta inflamatoria y de la liberación de citocinas pro-inflamatorias,

mejorando de esta forma la perfusión tisular y presumiblemente disminuyendo la hipoxia tisular.

El papel que puedan jugar las transfusiones y la concentración óptima de hemoglobina, permanece poco claro. La mayoría de los pacientes con shock séptico y hemoglobina de 8-10 g/dl, el metabolismo del oxígeno no mejora cuando son transfundidos, pero pueden responder a incrementos del flujo sanguíneo ⁹⁶. El incremento de la viscosidad sanguínea puede exacerbar las anomalías reológicas asociadas a la sepsis. En pacientes con insuficiencia cardíaca o con coronariopatías, no obstante, pueden ser necesarias elevadas concentraciones de hemoglobina para mantener el aporte de oxígeno.

1.7.1.2. Fármacos vasoactivos y presores

En pacientes con hipotensión, los agentes vasoactivos se han empleado para mantener la presión arterial ⁹⁷. Los agentes más comúnmente empleados son las catecolaminas. El perfil de estos agentes difiere y reflejan los receptores específicos que activan. La dopamina, un agente β_1 y α_1 adrenérgico, debe ser la primera elección en pacientes hipotensos con bajo gasto cardíaco. En pacientes con una presión arterial media superior a los 60 mmHg y evidencia de hipoperfusión tisular, la dobutamina, un agente $\beta_{1,2}$ adrenérgico, puede emplearse para mantener la presión arterial. La norepinefrina, un agente α_1 y α_2 adrenérgico, posee una actividad inotrópica y vasopresora equilibrada; su principal efecto es incrementar la presión sanguínea sin cambios significativos en el gasto cardíaco ni en la frecuencia. La norepinefrina debe considerarse en pacientes que responden a la dopamina con excesiva taquicardia o en aquellos que permanecen hipotensos a pesar de altas dosis de dopamina. Otras catecolaminas, como la fenilefrina o la

adrenalina, han sido empleados en el tratamiento de pacientes con shock séptico, pero hay poca experiencia con estos agentes. Las diferencias entre los distintos agentes catecolamínicos se establece en sus efectos en la perfusión regional durante la sepsis. La dobutamina se ha relacionado con mayores incrementos del flujo sanguíneo esplácnico que otras catecolaminas ⁹⁹. En pacientes sépticos hipotensos, la noradrenalina incrementa la perfusión esplácnica, mientras que la dopamina parece deprimirla ⁹⁹. La sensibilidad a las catecolaminas está significativamente alterada en el shock séptico. Por esta razón suelen ser precisas dosis mucho más altas de estos agentes en comparación con otras circunstancias clínicas.

Cuando en el shock séptico no se consigue remontar la TAM, está indicada la utilización de aminas vasoactivas. Dado que con el proceso inflamatorio de la sepsis se pierde la capacidad de autorregulación de los órganos, el objetivo es superar la TAM de 70 mmHg para optimizar la perfusión de los mismos, pero considerando los posibles efectos deletéreos en otros territorios como la circulación esplácnica (si provocamos una excesiva vasoconstricción). No hay evidencia de calidad para recomendar una amina sobre otra. Aunque existen bases fisiopatológicas para elegir la noradrenalina como de primera elección (mantiene la TAM a expensas de vasoconstricción sin aumentar el gasto cardiaco ni el consumo de oxígeno), produce vasoconstricción preferentemente en la arteriola eferente glomerular con lo que aumenta la fracción de filtración y puede mejorar la diuresis; tanto la dopamina como la noradrenalina administradas a través de un catéter central son los vasopresores iniciales de elección.

La utilización de dosis dopaminérgicas renales con la intención de proteger la función renal y aumentar la diuresis no tiene ningún papel en la actualidad.

Considerar la dobutamina en pacientes con un gasto cardiaco bajo. Su acción sobre receptores β_2 puede causar hipotensión, por lo que en el shock se ha utilizado conjuntamente con noradrenalina. Mejora el flujo esplácnico.

Los niveles de vasopresina disminuyen en pacientes con shock séptico y su administración eleva la TAM y permite reducir o retirar el resto de aminas. Su única indicación sería el shock séptico refractario a la expansión de volumen y aminas vasoactivas y las dosis utilizadas deberían ser 0,01-0,04 unidades/min, ya que en dosis más elevadas pueden producir isquemia coronaria y esplácnica

En las tablas VII y VIII se presentan las características y dosificación de las aminas vasoactivas de uso habitual. Los objetivos del tratamiento resucitador hemodinámico serían:

- Mantener la TAM > 70-80 mmHg.
- Alcanzar un gasto cardiaco < 3,5-4 l/min/m² o SVO₂ > 65-70%.
- Mantener un flujo urinario > 0,5-0,7 ml/kg/h.
- Disminuir los niveles de lactato.
- Mejorar la perfusión cutánea.
- Estabilizar y recuperar el nivel de conciencia.

Tabla VII. Características de las aminas vasoactivas				
Fármaco	Receptor	Dosis µg/kg/min	Efecto	Efecto
Noradrenalina	α1 y α2	0,002-1,5	Vasoconstricción	Pocos cambios en la frecuencia cardiaca y volumen minuto
Dobutamina	β1 y β2	2-20	Inotropismo + Cronotropismo +	Aumento del índice cardiaco + 25%-50%
Dopamina	β1 y Dopa	< 5	Vasodilatación	Mejora flujo coronario y visceral.
	β1	5 – 10	Cronotropismo +	
	α1 y α2	>10 - 20	Cronotropismo e Inotropismo + Vasoconstricción	
Vasopresina	V1	Variable	Vasoconstricción	Mecanismo de acción

				desconocido
Fenilefrina	α 1	0,5-8	Vasoconstricción	

Tabla VIII. Dosificación de aminas vasoactivas en el shock séptico (en mcg/k/min)

	Inicial	Habitual	Máxima
Dobutamina	2-5,5	10-20	50
Dopamina	2-5	5-25	60
Noradrenalina	0,04-0,5	1-2	5
Adrenalina	0,02-0,07	0,4	1
Fenilefrina	0,3	0,4-3,1	10
Isoproterenol	0,014-0,04	0,04-0,13	0,13-0,24

1.7.2. Tratamiento fisiopatológico

1.7.2.1. Actuación sobre la inflamación.

Corticoides. Los corticoides a dosis altas no se han mostrado eficaces, pero existen datos prometedores en relación a la administración de esteroides a dosis de estrés o de insuficiencia suprarrenal, especialmente en perfusión continua.

Hoy en día se recomienda esta pauta en todos los pacientes con shock séptico refractario a las aminas vasoactivas y en algunos casos se recomienda una prueba

de estimulación de ACTH negativa y sepsis grave o shock séptico refractarios al tratamiento.

Está demostrado que aquellos pacientes que no responden adecuadamente presentan mayor mortalidad. En estos casos se deberán usar corticoides a dosis de estrés: hidrocortisona 200-300 mg/24 h.

Debe destacarse que en ausencia de inestabilidad hemodinámica no deben administrarse esteroides en los procesos sépticos.

1.7.2.2. Actuación sobre la coagulación.

La Proteína C humana recombinante que se pensaba que tenía propiedades anticoagulantes (inhibición de los factores VIIIa y Va), fibrinolíticas (inactiva los supresores de la fibrinólisis PAI-1 y TAFI) y antiinflamatorias (desciende la cantidad de citocinas proinflamatorias de los monocitos) Sin embargo, desde los estudios de Abraham 2005 se demostró que la mortalidad a los 28 días, encontraron que la PCA no redujo el riesgo de muerte en pacientes adultos con sepsis grave. Sin embargo, el uso de la PCA se asoció a un riesgo mayor de hemorragia.

1.7.2.3. Actuación sobre la glucemia.

El tratamiento insulínico ha demostrado asociarse a una disminución de la mortalidad. El objetivo es mantener glucemias alrededor de 180 mg/dl mediante protocolos.

1.7.2.4. Actuación sobre la Insuficiencia renal aguda (depuración extrarrenal).

El *shock* séptico causa con frecuencia fallo multiorgánico en la UCI. Por esta razón, las terapias extracorpóreas para el tratamiento de la insuficiencia renal se han generalizado en las UCI y, al mismo tiempo, las nuevas técnicas de depuración extracorpórea se han desarrollado para la eliminación de mediadores inflamatorios.

Latour et al ¹² realizan una revisión crítica sobre la dosis óptima de diálisis en el fallo renal agudo, en la que analizan la efectividad de las dosis altas en comparación con las dosis tradicionales en pacientes con daño renal agudo, en términos de mortalidad y recuperación de la función renal, basándose en los estudios de Vicenza, ATN y DOREMI. Los resultados de dicha revisión muestran que hay evidencia comprobada de que la hemofiltración de alto volumen (HFAV) no reduce la mortalidad de manera significativa en pacientes con fallo renal, e incluso hay indicios de que la HFAV pudiera ser perjudicial en los pacientes con sepsis y fallo renal (DOREMI, OR ajustada (IC del 95%) = 1,91 [0,71- 5,13]). Existe moderada evidencia de que las dosis altas no mejoran la recuperación de la función renal en pacientes con fallo renal agudo (RR [IC del 95%] = 0,96 [0,88-1,05]), por lo que, dado el aumento de la carga de trabajo y costes asociados, la recomendación de la HFAV en estos pacientes no está justificada. Las recomendaciones sobre el uso de las dosis altas en pacientes con sepsis grave sin fracaso renal o la posible utilidad de la HFAV intermitente («pulsos»), en pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria e inestabilidad hemodinámica, quedaron fuera del ámbito de su revisión.

1.7.2.5. Plasmaféresis

Basándose en estudios previos donde parece que existe una tendencia a la disminución de la mortalidad, se han diseñado nuevas técnicas como es CPFA (plasma acoplado de adsorción de filtración), que utiliza un adsorbente de la separación entre el plasma y la sangre, obtenido con un filtro de plasma. El ensayo clínico COMPACT, pretende aclarar si la combinación de plasma, filtración y adsorción, es capaz de reducir la mortalidad y prevenir fallos orgánicos en *shock* séptico.

El tratamiento consiste en la separación del plasma de la sangre con la adsorción de los mediadores inflamatorios y citocinas desde el plasma, y una fase de purificación posterior por medio de un hemofiltro. Quizá es más útil en pacientes seleccionados con trombocitopenia y causadas por bacilos gramnegativos.

En España existe un ensayo clínico esperanzador en fase 3, multicéntrico que es el estudio ROMPA, en el que estamos a la espera de sus resultados.

1.7.3. Tratamiento etiológico

La mortalidad de los pacientes con sepsis y tratamiento empírico incorrecto (no cubre las bacterias posteriormente identificadas) es un 10-40% superior en relación a los que reciben tratamiento correcto. Entre el 30-70% de los casos este tratamiento inicial es incorrecto.

La correcta elección de los antibióticos se ha asociado de manera sólida con los mejores resultados en el shock séptico ¹⁰⁰. La elección del antibiótico debe realizarse en función del lugar de sospecha de la infección, cultivos realizados, organismos más frecuentemente aislados y modelos de susceptibilidad local. La

cobertura empírica debe incluir organismos aerobios gramnegativos y organismos grampositivos. Las infecciones en espacios cerrados requieren drenaje quirúrgico. El fallo en la respuesta al tratamiento antibiótico adecuado o el desarrollo de fracaso multiorgánico sugiere la existencia de lugares de infección no drenados o la aparición de organismos resistentes

Iniciar el tratamiento antibiótico intravenoso dentro de la primera hora del diagnóstico de sepsis severa después de haber obtenido los cultivos apropiados.

Se deben emplear uno o más fármacos activos contra las bacterias u hongos más probables considerando los patrones de susceptibilidad en la comunidad y en el hospital. Reconsiderar el antibiótico elegido a las 48-72 horas según el resultado microbiológico y la clínica con el fin de estrechar el espectro antimicrobiano para prevenir resistencias y reducir la toxicidad y costes. Una vez identificado el agente causal no hay evidencia de que la terapia combinada sea superior a la monoterapia. La duración del tratamiento debe ser típicamente de siete-10 días y guiada por la respuesta clínica.

A pesar del manejo agresivo del shock séptico, la tasa de mortalidad sigue estando en torno al 40-60%. Las investigaciones se han enfocado al uso de fármacos antiinflamatorios para mejorar los resultados ¹⁰¹. Estudios randomizados con estos agentes no han demostrado aumentar la supervivencia en casos de sepsis y shock séptico. Los esfuerzos iniciales para disminuir la respuesta inflamatoria se basaron en el empleo de corticosteroides ^{102 103}. En ensayos clínicos extensos, no se ha demostrado ningún beneficio con su uso. Tres anticuerpos monoclonales contra endotoxinas han sido testados en ensayos clínicos y ninguno de ellos ha demostrado mejorar la supervivencia en sepsis y shock séptico. Tampoco terapias anticitocinas usadas han demostrado mejorar la

supervivencia en el shock séptico. Estos ensayos han incluido el uso de antagonistas naturales del TNF e interleucina-1, anticuerpos contra el TNF, antagonistas de bradicininas, ibuprofeno y antagonistas del factor de activación plaquetaria. Adicionalmente otras terapias están siendo ensayadas, como factor bactericida incrementador de la permeabilidad, receptores solubles de CD14, y lipoproteínas reconstituidas de alta densidad. Intervenciones anti-inflamatorias todavía en estudio incluyen esfuerzos por modular la actividad del óxido nítrico, terapias directas con moléculas de adhesión de neutrófilos, infusión de antitrombina III, inhibidores de factores tisulares, activadores de la proteína C, y pentoxifilina. Alternativamente, el factor activador de colonias de granulocitos está siendo estudiado en un esfuerzo de aumentar la función de las células fagocíticas en pacientes con sepsis severa. Enfoques futuros implicarán la adaptación clínica de técnicas biológicas moleculares, como la terapia génica ¹⁰³.

Hay varias razones para explicar el fallo de los tratamientos directos contra los mediadores implicados en la sepsis. En primer lugar, el shock séptico es un síndrome complejo no totalmente conocido. Dada su complejidad, la esperanza de encontrar un solo agente con eficacia terapéutica parece una aproximación excesivamente simplista. En segundo lugar, las poblaciones de pacientes incluidas en los estudios han sido muy variadas en términos de enfermedad de base, severidad de la enfermedad y respuesta inmunológica. En tercer lugar, el momento de aplicación y las dosis de estas intervenciones son poco claras. En contraste con estudios experimentales, estos agentes son administrados mucho más tarde en el curso de la sepsis. En cuarto lugar, el empleo de intervenciones que disminuyan la respuesta inmune puede exacerbar la influencia de las sustancias inmunosupresoras liberadas en el shock séptico, con la posibilidad de complicaciones infecciosas subsecuentes. En quinto lugar, las intervenciones inmunológicas modulan la actividad de los mediadores y pueden disminuir el grado de

inflamación, pero una excesiva atenuación puede tener efectos adversos sobre el aclaramiento de la infección primaria. Futuros estudios que incorporen estos conceptos con una mejor comprensión de los procesos inmunológicos subyacentes y un mejor diseño de los mismos podrán rendir importantes avances terapéuticos.

2. RADICALES LIBRES

2.1. INTRODUCCIÓN

El precio de la vida aeróbica es la producción de compuestos que pueden producir lesión tisular. La vida en un medio rico en oxígeno tiene la ventaja de favorecer una producción eficaz de ATP en la mitocondria, mediante la fosforilación oxidativa, pero la reducción incompleta del oxígeno muscular favorece la entropía de la vida en la tierra, al producir nuevas oxidaciones. Por tanto, el pago de este beneficio es la producción de radicales libres de oxígeno. Éstos son compuestos tóxicos, como se puede deducir de la alta cantidad de protectores frente a ellos que existen en los organismos vivos.

Los átomos se encuentran rodeados por pares de electrones dispuestos en órbitas, esto les confiere estabilidad. Un radical libre es un átomo, molécula o cualquier compuesto que contiene uno o más electrones no apareados en su órbita externa.

ÓXIDO NÍTRICO Y RADICALES LIBRES: LIPOPEROXIDACIÓN

2.1.1. ÓXIDO NÍTRICO:

El **monóxido de nitrógeno** u óxido nítrico (**NO**) es una molécula de estructura simple y función compleja, está implicada entre los mecanismos de defensa del huésped, la neurotransmisión y la regulación del sistema cardiovascular. Mantiene en condiciones fisiológicas un tono vasodilatador en el sistema vascular.

El NO es sintetizado en el organismo a partir del nitrógeno de la guanidina terminal de la molécula de L-arginina. En esta reacción intervienen dos tipos de enzimas: la **óxido nítrico sintetasa constitutiva (cNOS)** y la **óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS)**, rindiendo NO y L-citrulina ¹⁰⁴.

La eNOS es la responsable de la producción de NO basal. Su actividad está regulada por los niveles intracelulares de calcio iónico, es calcio-calmodulina dependiente y se localiza fundamentalmente en el endotelio vascular, en el sistema nervioso central y periférico, y en las plaquetas ^{105 106}.

La iNOS es inducida por todos aquellos factores implicados en las reacciones inmunológicas e inflamatorias como las citoquinas y los lipopolisacáridos bacterianos, dando como resultado una producción masiva y duradera de NO, con la consiguiente vasodilatación, depresión miocárdica, así como daño endotelial y tisular; todo ello conduce a la hipoperfusión generalizada y al fallo multiorgánico característicos del shock séptico. La iNOS es calcio-calmodulina independiente y se localiza en diversos tejidos incluyendo las células inmunológicas (polimorfonucleares, macrófagos y células T).

Aunque el NO tiene un papel crucial como eslabón entre la endotoxina, las citocinas y el daño tisular generalizado del shock séptico, existen muchas dudas sobre las posibilidades terapéuticas de los inhibidores actuales del NO; así el bloqueo en la producción de NO con algunas de estas sustancias produce trastornos graves al organismo, destacando lesiones hepáticas e intestinales ¹⁰⁷.

La producción de NO dependiente de la iNOS puede ser revertida de forma importante por algunos análogos de la L-arginina que inhiben la síntesis de NO, como la N^Gmonometil-L-arginina (L-NMMA, inhibidor no selectivo actúa sobre ambas isoformas de NOS) ^{108,109,110,111}, corticoides como la dexametasona (que inhibirían únicamente la iNOS), melatonina (inhibición selectiva de la iNOS y efecto protector sobre la peroxidación lipídica) ¹¹² o moléculas más recientes como la BN80933 que además de inhibir selectivamente la producción neuronal de NO (y no la producción endotelial de NO de

efectos protectores demostrados durante la isquemia) asocia potentes propiedades antioxidantes ¹¹³.

2.1.1.1. -Bases bioquímicas

El NO transporta un electrón no apareado comportándose como un radical libre que reacciona ávidamente con otras moléculas. Tiene una gran liposolubilidad y desaparece rápidamente en presencia de O₂, con una vida media de cerca de 3 segundos. Por ello, sólo puede detectarse a través de sus metabolitos: los nitratos y los nitritos. Su misión es la de ser un mensajero intercelular fugaz, que transmite información y desaparece¹¹⁴.

El NO activa la guanilciclase elevando los niveles de guanosilmonofosfatociclase (cGMP), siendo este segundo mensajero intracelular el responsable de las acciones del NO ¹¹⁶.

El NO puede actuar de formas diversas según su estado de oxidación. Cuando se presenta en su forma reducida NO• (óxido nítrico propiamente dicho) tiene una enorme capacidad lesiva, mientras que en su forma oxidada NO⁺ (ión nitrosonium) es protectora.

El comportamiento como radical libre del NO depende de su electrón desapareado. El NO reacciona con el radical superóxido originando el anión peroxinitrito que a pH fisiológico se protona y se descompone espontáneamente en el radical hidroxilo y en dióxido de nitrógeno, ambas moléculas muy tóxicas. El radical hidroxilo es un gran devastador de los lípidos de membrana. Ataca los ácidos grasos y empieza el proceso de lipoperoxidación.

2.1.1.2. -Funciones fisiológicas del NO en el ser humano

- Relajante del músculo liso.

- Neurotransmisor en el sistema nervioso central y periférico y mediador de las acciones del glutamato en los niveles de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) en el cerebro.
- Inhibidor de la agregación plaquetaria.
- Inmunomodulador y citotóxico.

a) Acción relajante del músculo liso: Vasodilatación mediada por el NO

El NO es el responsable de que el tono basal del aparato circulatorio sea la vasodilatación, debido a su efecto dilatador por relajación de la fibra muscular lisa vascular.

La cNOS en el endotelio vascular es activada por la acción de sustancias como la acetilcolina o la bradicinina en receptores específicos o, simplemente, por efecto del flujo sanguíneo sobre las células endoteliales. El NO así producido en el endotelio pasa a la capa muscular e induce relajación por activación de la guanilatoclasa y generación de cGMP, este activa una protein quinasa cGMP-dependiente que produce la expulsión del calcio intracelular a través de un transportador de membrana ATP-dependiente, con la vasodilatación consecuente. Junto a este mecanismo, también se ha defendido la teoría de la hiperpolarización. El NO hiperpolarizaría el músculo liso mediante la apertura de canales de potasio en la membrana muscular ¹¹⁶. La regulación de la perfusión a los distintos órganos se produciría a través de aumentos o descensos en la producción de NO, induciendo grandes cambios de la presión y del flujo arterial.

También el endotelio vascular y el músculo liso vascular son capaces de expresar la iNOS. Así en situaciones de shock endotóxico se produce una liberación masiva de NO en la pared vascular capaz de explicar la hipotensión y la hiporreactividad a los vasoconstrictores en el shock séptico ¹¹⁷.

La endotoxina, el TNF- α , la IL-1 β y el INF- γ , son potentes estímulos para la síntesis de NO en macrófagos, hepatocitos y células endoteliales ¹¹⁸.

b) Inhibición de la agregación plaquetaria

El NO inhibe la adhesión y la agregación plaquetaria *in vivo* a través de la activación de la guanilato ciclasa soluble, formando cGMP que inhibe la adhesión y la agregación plaquetaria ¹¹⁹.

Cuando se administra un agente proagregante plaquetario que actúa produciendo una elevación del calcio intraplaquetario esta elevación a su vez activa la NOS, desencadenándose un excelente mecanismo fisiológico regulador de la agregación plaquetaria ¹²⁰. Además las plaquetas generan NO, lo cual actúa como un mecanismo de *feed-back* negativo para inhibir la agregación plaquetaria.

c) Función inmunomoduladora y citotóxica

El NO es un mediador en los mecanismos de defensa del huésped. Las células del sistema reticuloendotelial (que cuando no están activadas no son capaces de liberar NO), en presencia de endotoxina y de algunas citocinas, como el FNT- α , IL-1 e INF- γ , son capaces de sintetizar *de novo* la iNOS. Los macrófagos activados forman citrulina y NO a partir de L-arginina y esto se asocia con un incremento de la citotoxicidad de estas células. Esta toxicidad se ha comprobado contra células tumorales y contra bacterias, hongos y parásitos como leishmania ¹²². También a nivel de los granulocitos neutrófilos se segrega NO rápidamente y durante cortos períodos de tiempo ¹²³. Probablemente el NO actúa con los radicales de oxígeno tóxicos y con los enzimas lisosomiales en las células fagocíticas, para destruir células neoplásicas y microorganismos.

El NO ejerce su efecto citotóxico debido a su reacción con enzimas que contienen hierro y una rápida combinación del NO con oxígeno, produciendo radicales libres. Por este motivo puede inhibir los mecanismos de respiración oxidativa intracelulares y disminuir el consumo de oxígeno al lesionar la cadena respiratoria mitocondrial, efecto inhibidor de la respiración celular, que estaría implicado en el descenso del consumo de oxígeno que se observa en el shock séptico, independientemente del descenso del aporte por la disminución de la perfusión tisular.

Las células endoteliales expresan una NO sintetasa inducible cuando son incubadas *in vitro* con endotoxina e interferón, y se produce una disminución progresiva de células endoteliales viables. Este efecto citotóxico ocurre tras un intervalo de 4 horas y tiene su máxima acción a las 18 horas. Es inhibido por L-NMMA y por corticoides. Probablemente la lesión endotelial y las lesiones en otras células que ocurren en la sepsis, es debida a los efectos tóxicos producidos por el aumento en la síntesis de NO¹²⁴.

La depresión miocárdica que caracteriza al shock séptico depende del efecto citotóxico del NO, producido en exceso por expresión de la iNOS, sobre el músculo cardíaco ¹²⁵. También el efecto miocardiodepresor de algunas citocinas, fundamentalmente TNF, se ejerce a través del NO ¹²⁶.

d) Neurotransmisión a nivel del sistema nervioso central y periférico y mediador de las acciones del glutamato en los niveles cerebrales de cGMP

El NO parece ser un elemento indispensable para la fijación de la memoria actuando en los procesos de aprendizaje y en los mecanismos neurológicos del sueño. Una vez adquiridos los conocimientos la inhibición de la NOS no afecta su rememoración

¹²⁷.

En el aparato respiratorio se ha comprobado la existencia de vías nerviosas con terminaciones que liberan NO a nivel bronquial ("*vías nitrérgicas*"), que constituyen la única vía nerviosa broncodilatadora ¹²⁸.

2.2. -OTROS RADICALES LIBRES

La vida en un medio rico en oxígeno tiene la ventaja de favorecer una producción eficaz de ATP en la mitocondria, mediante fosforilación oxidativa. El pago de este beneficio es la producción de radicales libres de oxígeno (OR·). Un radical libre es un átomo, molécula o cualquier compuesto que contiene uno o más electrones no apareados en su órbita externa ¹²⁹, lo que hace que estos productos sean muy inestables y fugaces, cuya persistencia o vida media puede ser inferior a una milésima de segundo. Son compuestos muy tóxicos, como se puede deducir de la alta cantidad de protectores frente a ellos, que existen en los organismos vivos.

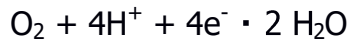
Un compuesto estable puede transformarse en radical libre por tres mecanismos:

- a) Ganando un electrón.
- b) Perdiendo un electrón.
- c) Por fisión homolítica simétrica de una unión covalente.

Cuando el oxígeno se reduce totalmente, capta cuatro electrones, con la formación final de agua. Sin embargo en algunas células, pueden producirse procesos de reducción parcial, originándose compuestos intermedios altamente reactivos. Los más importantes son el radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. La mayor potencia oxidante corresponde al radical hidroxilo, seguido del peróxido de hidrógeno y de menor intensidad al superóxido ¹³⁰.

2.2.1. -Anión superóxido.

El oxígeno molecular es en sí mismo un birradical, con un electrón no apareado en cada una de sus órbitas externas girando en la misma dirección, lo que le confiere estabilidad. Cuando el oxígeno capta cuatro electrones, se reduce por completo a agua:



Pero cuando capta un electrón, se reduce, transformándose en anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$)¹³¹. Esta reacción se ve favorecida por los siguientes procesos:

- Agentes externos: radiaciones ionizantes, gases de óxido de nitrógeno, etc.
- Sistemas enzimáticos endógenos: xantino oxidasa, peroxidasas, etc.
- Fosforilación oxidativa en la mitocondria.
- Oxidación de compuestos endógenos y exógenos por el citocromo P-450.
- Sistema del fosfato dinucleótido de adenina y nicotinamida oxidasa (NADPH oxidasa) presente en la superficie de neutrófilos, eosinófilos, monocitos y macrófagos.

El $\text{O}_2^{\cdot-}$ es un producto relativamente poco reactivo, pero puede dar lugar a distintos radicales libres, por distintos mecanismos:

1. Mediante protonación da lugar a radical peroxidrilo (OH^{\cdot}), que en tejidos isquémicos, en la interfase macrófago / célula endotelial y en las vacuolas de los fagocitos, donde el pH es más bajo, puede alcanzar altas concentraciones. Este radical tiene mayor potencia oxidante que el superóxido.
2. Combinándose con el óxido nítrico (NO^{\cdot}), origina radical nitroperoxil, así el $\text{O}_2^{\cdot-}$ es capaz de inactivar el NO^{\cdot} , formando peroxinitrito ($\text{ONOO}^{\cdot-}$), este compuesto

reacciona con grupos sulfidrilos con mucha mayor rapidez que el peróxido de hidrógeno.

3. Por dismutación del $O_2^{\cdot-}$, se produce peróxido de hidrógeno.

2.2.2.-Peróxido de hidrógeno.

La interacción de dos moléculas de anión superóxido de forma espontánea o catalizada por la superóxido dismutasa origina peróxido de hidrógeno (H_2O_2). También se puede producir H_2O_2 , de forma directa a través de la vía de la glucosa oxidasa. El H_2O_2 no es un radical libre, dado que no posee electrones no apareados en su última órbita, por lo que es estable, tiene una vida media relativamente larga y puede atravesar la membrana celular. Esto es muy importante pues el H_2O_2 está sometido a los siguientes procesos:

1. Inactivación a H_2O : sobre el H_2O_2 puede actuar la glutatión peroxidasa y la catalasa, produciendo agua.
2. Sistema mieloperoxidasa/Haluro/Peróxido de hidrógeno (Sistema de Klebanoff): durante la fagocitosis la mieloperoxidasa es vertida al interior de la vacuola, pero también puede pasar hacia fuera de la célula. El H_2O_2 reacciona con la mieloperoxidasa formando compuesto mieloperoxidasa- H_2O_2 . Este compuesto actúa sobre unos sustratos, siendo el más abundante en los fluidos biológicos el cloruro. Los efectos tóxicos de estos compuestos se realizan por halogenación y oxidación.
3. Formación de radical hidroxilo: la interacción del H_2O_2 con el $O_2^{\cdot-}$ genera el radical hidroxil, este proceso necesita del hierro libre, que "in vivo" parece que procede de la ferritina 3. Para la producción de $O_2^{\cdot-}$ y posterior peroxidación de lípidos es preciso que la capacidad de detoxificar el $O_2^{\cdot-}$ y

H_2O_2 en la célula se encuentre sobrepasada: $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ Fe}^{3+} \cdot \text{HO}\cdot + \text{HO}^- \text{ Fe}^{3+}$
(reacción de Fenton).

2.2.3.-Radical hidroxilo.

En la producción del radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), el factor limitante es el hierro y en menor cuantía el cobre (reacción de Haber-Weiss), pero precisa "in vivo" de unos pasos intermedios (reacción de Fenton). Este proceso es facilitado por el pH ácido (foco inflamatorio) y por la presencia de hierro libre, que puede ser liberado por la hemoglobina, transferrina y ferritina por acción sobre ellas del H_2O_2 y $\text{O}_2\cdot^-$.

El $\text{OH}\cdot$ es el más potente oxidante de los radicales libres de oxígeno, pero por su alta reactividad, tiene un radio de acción y vida media muy corta.

El $\text{OH}\cdot$ puede actuar sobre los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana celular, iniciando reacciones de peroxidación de lípidos que pueden ser detectados por la liberación de etano, pentano y malondialdehído (MDA).

2.3.-FUENTES DE RADICALES LIBRES.

Los más importantes en patología humana son las siguientes:

- a) *Cadena de transporte mitocondrial de electrones*: La reducción completa del oxígeno en la mitocondria, está relacionada con la síntesis de ATP. Pero en circunstancias normales y en determinados procesos patológicos se produce la reducción de un único electrón de O_2 , produciéndose $\text{O}_2\cdot^-$, algunos estudios indican que este proceso puede representar hasta el 1% del proceso. La producción de estos radicales libres se produce fundamentalmente cuando la mayor parte de los compuestos de la cadena de transporte de electrones se encuentran en estado reducido. Esta

situación se produce cuando existe un descenso en el aporte de O₂ a la mitocondria o cuando hay un deterioro en el flujo de electrones en la cadena de transporte de electrones mitocondrial como sucede en la sepsis.

- b) *Metabolismo de eicosanoides*: Diversos estímulos, incluyendo la sepsis, pueden activar el metabolismo del ácido araquidónico, produciendo eicosanoides y radicales libres de oxígeno ¹³².
- c) *Xantino-oxidasa*: tiene su mayor importancia en las lesiones inducidas por isquemia-reperfusión. Durante la isquemia se producirá un acúmulo de xantina e hipoxantina, así como de xantino-oxidasa. Con la llegada del oxígeno, se producirán grandes cantidades de radicales libres por la acción de la xantino-oxidasa sobre la xantina e hipoxantina ¹³³.
- d) *Fagocitos*: granulocitos polimorfonucleares, monocitos, macrófagos y eosinófilos, que normalmente tienen un metabolismo anaerobio, cuando se exponen a determinados estímulos sufren cambios importantes en su metabolismo, aumentando su consumo de oxígeno y produciendo H₂O₂, O₂^{·-} y productos lisosomiales¹³⁴.

2.4.- CONTROL DE LOS RADICALES LIBRES

Para la regulación de los radicales libres en el organismo, existen dos sistemas bien diferenciados; Las sustancias antioxidantes, que tienen la capacidad de oponerse a la acción del oxígeno y de ciertas especies oxidantes, independientemente de su mecanismo, que generalmente es de origen radicalario, y , por otro lado, los rastrillos de radicales ("scavenger"), que tienen la capacidad de destruir directamente los radicales libres, en especial aquellos no reducibles (poco sensibles a los antioxidantes) implicados en procesos fisiológicos y patológicos .

La alta reactividad de los radicales libres hace que su vida media sea muy corta y por tanto tienen una acción prácticamente local. Por otro lado, se ha comprobado la presencia de sistemas enzimáticos específicos que tratan de evitar la difusión de los radicales libres fuera del compartimento en el que fueron creados. Los sistemas más importantes son:

- Superóxido-dismutasa: Enzima presente en todos los organismos aeróbicos y se encuentra ampliamente distribuido por cerebro, hígado, hematíes y pulmón. La fracción rica en cobre se localiza en líquido intersticial y plasma. Este enzima favorece la eliminación del radical superóxido al acelerar 10.000 veces su dismutación produciendo H_2O_2 . Por tanto son necesarios otros enzimas que eliminen el H_2O_2 como son la catalasa o el glutatión.

- Catalasa: Hemoproteína que transforma el H_2O_2 en oxígeno y agua. Solamente es activa frente a moléculas de pequeño tamaño, por lo que carece de efecto frente a los peróxidos lipídicos. Se encuentra localizada dentro de la célula (peroxisomas), siendo sus concentraciones altas en hepatocitos y eritrocitos, pero escasas en pulmón y cerebro.

- Glutatión peroxidasa: Es una proteína tetramérica, con un peso molecular de 85 Kda, que tiene cuatro átomos de selenio en su lugar activo. Tiene alta actividad antiperoxidasa, es activa frente a moléculas de alto peso molecular (peróxidos lipídicos) y también frente al H_2O_2 y el O_2 . Éste sistema enzimático es clave para el mantenimiento de los bajos niveles de peróxidos que normalmente existen. Se encuentra muy difundida en las células y en el plasma. Utiliza el glutatión como cofactor, catalizando la conversión de los peróxidos a sus correspondientes alcoholes, provocando la conversión del glutatión reducido (GSH) a oxidado (GSSG).

2.5.-LESIONES MEDIADAS POR RADICALES LIBRES DE OXÍGENO.

Todas las macromoléculas orgánicas son diana para la acción de los radicales libres.

- a) *Carbohidratos:* los monosacáridos (glucosa, manosa o manitol) actúan como limpiadores (scavengers) del radical superóxido e hidroxilo. Sin embargo los polisacáridos pueden ser destruidos por la acción de los radicales libres.
- b) *Proteínas:* las proteínas son las macromoléculas más abundantes de las células, todas están sometidas a la acción de los radicales libres, dependiendo de su composición en aminoácidos, ya que determinados compuestos son más sensibles a su acción deletérea, como son: los grupos tiol (-SH), anillos aromáticos y enlaces insaturados. Así las proteínas que contienen triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína, son más sensibles. Sufriendo procesos de desnaturalización y/o fragmentación. El resultado final será pérdida de la función enzimática, estructural o formación de puentes de disulfuro. Según su composición y localización de sus aminoácidos y posibilidad de reparación ¹³⁵.
- c) *Lípidos:* el efecto sobre los lípidos se ejerce fundamentalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados, generándose un radical lipídico, que origina un dieno conjugado. Este al reaccionar con el oxígeno molecular dará lugar a un radical lipídico hidroxiperoxil, que a su vez puede actuar sobre otro nuevo ácido graso poliinsaturado iniciando otro nuevo ciclo. Estas reacciones terminarán cuando de la unión de dos radicales libres, se generen aldehídos, hidrocarburos y residuos químicos como el malondialdehído. Estas alteraciones pueden afectar a los fosfolípidos de la

membrana celular y de las organelas, produciendo lesiones celulares. Si los radicales libres difunden fuera de la célula, se pueden dañar los endotelios vasculares, produciendo alteraciones de la permeabilidad vascular y por último pueden producirse sustancias quimiotácticas ¹³⁶.

- d) *Ácidos nucleicos*: los radicales libres de oxígeno pueden dar lugar a importantes anomalías en los ácidos nucleicos debido a la hidroxilación de las bases nitrogenadas y a lesiones en la estructura del DNA. Estas lesiones están relacionadas con la carcinogénesis, mutagénesis y con interferencias en la capacidad de síntesis, replicación y reparación celular.

2.6.-MONITORIZACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO.

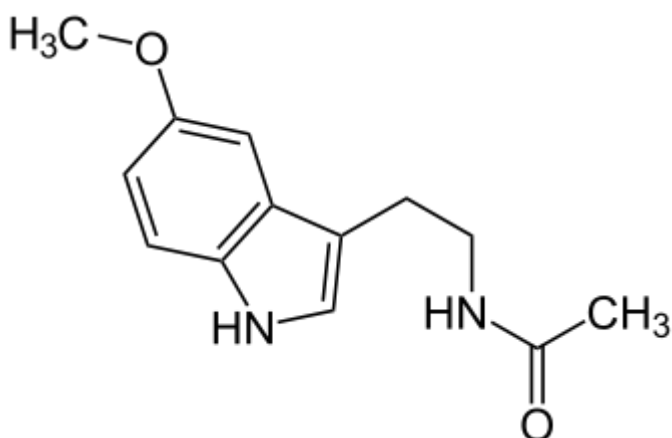
Los radicales libres de oxígeno son compuestos de vida media muy corta, por lo que son difíciles de medir directamente. Por lo que se realiza una valoración indirecta mediante la presencia de productos derivados de la interacción de estos con los constituyentes celulares. Así la reacción con los lípidos de la membrana celular genera lípidos peroxidados que sí se pueden medir directamente. La determinación de los dienos conjugados junto con la del MDA son las más difundidas para el estudio de la lesión oxidativa.

- a) *Malonildialdehido (MDA)*: El malondialdehido (MDA), producto de la lipoperoxidación lipídica y principal exponente de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARS, sustancias detectadas en el análisis bioquímico), se eleva de forma más relevante mediante períodos de isquemia de 12 horas respecto a las cifras observadas en el grupo sometido a un síndrome de isquemia reperfusión mediante un período de isquemia de 6 horas. Esto es indicativo de un estado de estrés oxidativo más avanzado

mediante isquemia de 12 horas. Para el estrés oxidativo la medición de MDA es la técnica más utilizada para detectar la presencia de productos derivados de la peroxidación de lípidos. La reacción de los radicales libres sobre los ácidos grasos poliinsaturados de la membrana celular, genera compuestos de 3 carbonos, el mejor estudiado es el MDA. Es un compuesto muy reactivo y puede reaccionar con múltiples macromoléculas, así la cantidad de MDA que se cuantifica puede infraestimar la cantidad total producida. Si bien el MDA es un indicador muy sensible de lesión oxidativa es también muy inespecífico, sobre todo en sistemas complejos como el plasma. Sustancias MDA-like pueden ser producidas por la oxidación de otros compuestos no lipídicos, por tanto no debe ser usado de forma aislada como el único criterio que indique la presencia de lesión oxidativa. Mediante técnicas de cromatografía líquida de alta resolución se pueden excluir estas reacciones inespecíficas ¹³⁷.

- b) *Hidroxialdehidos*: la valoración de estos compuestos únicamente derivados de la peroxidación de lípidos, mejora la especificidad del MDA. Se ha utilizado el análisis del 4-hidroxi-alkenal (4-HDA), mediante técnicas de cromatografía líquida de alta presión y cromatografía de gases¹³⁸

3.-MELATONINA



La N-acetil-5-metoxitriptamina, comúnmente conocida como melatonina, es una estructura indólica derivada de la serotonina a partir del triptófano.

El órgano endocrino responsable de la producción circadiana de la melatonina es la glándula pineal, localizada en el centro del encéfalo. Se trata de una estructura circunventricular, es decir, próxima al tercer ventrículo cerebral, y fuera de la barrera hematoencefálica.

Hoy día, se sabe que la melatonina también se sintetiza en el timo, retina, linfocitos B, hígado y, sobre todo, en el intestino en grandes cantidades. La distribución orgánica de la melatonina se corresponde con la localización de las células argentafines productoras de serotonina. La melatonina de origen extrapineal pasa a la circulación, aunque aquella sintetizada en la retina y el tracto gastrointestinal pueden actuar en esa localización. Esta melatonina extrapineal probablemente mantienen una regulación de la ruta de biosíntesis diferente de la regulación de la síntesis en la glándula pineal.

El 95% de la melatonina liberada a la sangre es metabolizada en el hígado. En el SNC la melatonina es rápidamente oxidada hacia N-acetil-5-metoxi-kinurenamina,

sustancia que supone un 15% del total de los metabolitos urinarios de la hormona. La vida media de la melatonina tiene unos valores que fluctúan entre los 20 minutos a los 45-60'.

3.1.-ACCIONES DE LA MELATONINA

La evolución de los seres vivos ha tenido que superar condiciones ambientales adversas debidas principalmente a la alta concentración atmosférica de oxígeno y a la presencia de radiaciones solares ultravioletas, ambos factores promotores de una potente acción prooxidante capaz de desencadenar efectos muy adversos para distintas estructuras básicas celulares.

Estas circunstancias promovieron la aparición y desarrollo de mecanismos de defensa antioxidante, como primera barrera que asegurara la supervivencia de los seres vivos más primitivos, y posteriormente como una de las principales bases de la funcionalidad armónica y equilibrada de la fisiología de las distintas especies.

Por otro lado, la necesidad de movimiento y ejercicio físico ha sido uno de los estímulos que han acompañado al ser humano durante toda su evolución. Sin embargo, aunque la práctica regular de actividad física es uno de los hábitos más recomendados para combatir los procesos oxidativos ligados, entre otros, al proceso del envejecimiento, el ejercicio supone una mayor utilización metabólica del oxígeno, que finalmente promueve respuestas prooxidantes. Esta dualidad en las respuestas oxidativas (prooxidante/antioxidante) se basa en que cada tipo de ejercicio (definido por sus variables de intensidad, duración, etc.) promueve distintas respuestas y adaptaciones sobre el metabolismo del oxígeno.

La melatonina o N-acetil-5-metoxitriptamina es una hormona con distintas funciones fisiológicas, cuya capacidad antioxidante es una de las más relevantes en el campo del ejercicio físico, debido a sus potenciales efectos beneficiosos.

La melatonina no es una hormona en el sentido clásico del término, es decir, un compuesto químico que, sintetizado en un órgano determinado, actúa en las células diana, aquellas que presentan receptores específicos a la hormona. Aunque la responsable de la secreción circadiana de la melatonina es la glándula pineal, las otras estructuras que sintetizan el indol pueden participar en el *pool* total de melatonina circulante, o bien pueden utilizarla en procesos de autorregulación local. Por otro lado, la melatonina, al ser **muy lipofílica**, atraviesa todas las membranas incluidas la membrana celular, además de las barreras hematoencefálica y placentaria. En consecuencia, la melatonina alcanza el citosol de todas las células del organismo, no estando restringida su función a un grupo de células.

- Sincronización de un gran número de ritmos biológicos endocrinos y no endocrinos (reproducción, sueño-vigilia, actividad locomotora).
- Potencia la respuesta del sistema inmune. Su acción se realiza a través de los linfocitos T-helper, péptidos/receptores opioides, linfoquinas y parece ser también ciertas hormonas pituitarias. Por otro lado, linfoquinas como el INF- γ y la IL-2, así como el timo, pueden modular la síntesis de melatonina a nivel de la glándula pineal. El uso de melatonina como agente inmunoterápico parece que es claro, sobre todo en estados de inmunodeficiencia, ya que parece ser que en estas situaciones esta hormona es más activa.
- Regula la actividad cerebral, sincronizando la actividad neuronal al fotoperíodo. La melatonina ejerce una influencia inhibidora sobre el sistema nervioso central, con efectos analgésicos y ansiolíticos similares a los producidos por las benzodiazepinas a través de su interacción con receptores del complejo GABA-benzodiazepinas y probablemente con receptores de péptidos corticotropos y opioides. Por otro lado, los

efectos anticonvulsivantes y depresores del sistema nervioso central realizados por la melatonina pueden depender de su actividad antioxidante y antiexcitotóxica. Estos efectos se manifiestan actuando la melatonina como depurador de radicales libres e inhibiendo los receptores cerebrales glutamatérgicos.

- Actúa como protector celular. Esta actividad protectora se produce por dos mecanismos:

1. Como antioxidante y depurador de radicales libres, tanto de radicales hidroxilo como peroxilo.^{139,140,141,142} La actividad antioxidante de la melatonina es más eficaz que la de otros antioxidantes endógenos (como la vitamina E y el glutatión considerados los antioxidantes primarios de la célula), principalmente porque se realiza a todos los niveles de la célula (membrana, citosol, mitocondria y núcleo), debido a la gran lipofiliidad de la indolamina, que le permite acceder a todos los lugares de la célula ¹⁴³. Además, por medio de su receptor nuclear, regula genómicamente la expresión de determinados enzimas de óxido-reducción. La melatonina, al ser muy lipofílica, atraviesa todas las membranas celulares, además de las barreras hematoencefálica y placentaria. Las funciones de la melatonina como un antioxidante incluyen:

- Tiene una función neutralizante directa de RL.
- Estimula la actividad de enzimas antioxidantes mediante la regulación de la expresión génica de determinadas enzimas de óxido-reducción
- Incrementa la eficiencia de la fosforilación oxidativa mitocondrial y reduce el escape de electrones.
- Aumenta la eficiencia de otros antioxidantes.

Reiter evidenció que la melatonina presentaba un efecto protector antioxidante frente al daño oxidativo superior al del manitol, glutatión y vitamina E.

En todos los modelos experimentales conocidos^y la melatonina mostró capacidad como agente antioxidante con los siguientes resultados sobre procesos degenerativos crónicos relacionados con el estrés y daño oxidativo:

- Prevención de la lesión oxidativa mitocondrial causada por la proteína beta-amiloide, marcador neuropatológico del Alzheimer.
 - Disminución de la peroxidación lipídica de corteza cerebral y diencefalo así como la ulcerogénesis de mucosa gástrica desencadenada por MDA.
 - Prevención de la necrosis tubular con su poder antioxidante y restauración de la actividad enzimática antioxidante en riñón de rata, tras el tratamiento con gentamicina, la cual aumenta la lipoperoxidación.
 - Reducción de la peroxidación lipídica de hígado, pulmón, íleon y riñón de rata, tras la exposición a zimosano, agente no bacteriano que produce inflamación a través de las especies reactivas de oxígeno
 - Disminución del daño en la zona piramidal del hipocampo de rata, tras la exposición al ácido quinolénico que desencadena daño neuronal.
 - Disminución significativa de la peroxidación lipídica en bazo y plasma de rata tras una sobredosis de hierro o fosfina, desencadenadores de la peroxidación lipídica.
 - Protección pulmonar y renal en rata contra el efecto carcinógeno potencial, desencadenado por el ácido D-aminolevulínico.
2. Como antiexcitotóxico, ya que potencia la neurotransmisión GABAérgica e inhibe la glutamatérgica. Mientras que la potenciación de la GABAérgica puede deberse a un

efecto sobre la síntesis de neuroesteroides, la inhibición glutamatérgica se produce en parte por inhibición de la actividad de la NOS, mediante la unión de la melatonina al complejo calcio-calmodulina impidiendo que este active la NOS, y disminución consiguiente de la producción de NO ^{144,145,146}. En este sentido se ha demostrado que la expresión a nivel cerebral de la iNOS se encuentra bajo regulación de la melatonina y que esta es capaz de reducir el daño neuronal en modelos experimentales de isquemia-reperfusión. También la melatonina ha demostrado ser capaz de inhibir la expresión de la iNOS en modelos experimentales de shock séptico LPS-inducido en hígado y pulmón de ratas.

3.2. CONSUMO DE MELATONINA

En la actualidad la melatonina es consumida en algunos países para los problemas de insomnio, para el jet-lag y en ocasiones para ralentizar el envejecimiento. En España, la melatonina es un producto de investigación clínica, sin embargo en otros países se puede adquirir como suplemento en tiendas de dietética. La dosis de administración de melatonina oscila desde 0,5 a 3 mg, debiendo ingerirse normalmente una hora antes de acostarse. Tiene una vida media corta, en torno a los 40-50 minutos. Las concentraciones en suero alcanzan el pico a los 20 minutos y después caen rápidamente.

Los efectos más destacados de la melatonina como suplemento dietético en distintas patologías se resumen en lo siguiente:

Trastornos del sueño

Existen multitud de estudios que versan sobre los trastornos del sueño y el papel que juega la melatonina en ellos. Ya en el año 1993 Petrie et al ¹⁴⁸ observaron como el uso de melatonina como suplemento dietético mejoraba los

trastornos asociados al jet-lag. Así mismo, en 1996 varios autores preocupados por los efectos que podían tener en el trabajo militar obtuvieron resultados prometedores de cara a su prevención en pacientes sanos que sufrían de trastornos similares y degradación cognitiva en los despliegues que realizaban en cortos periodos de tiempo ¹⁴⁷.

Posteriormente Nunes et al ¹⁴⁹ observaron cómo mejoraban el sueño pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o por ejemplo en el caso de pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) del estudio de Pereira²¹, que mejoraba el cuadro a la vez que su calidad de sueño. Si bien es cierto que no ocurrió así en pacientes con otro tipo de problemas como los que sufrían de insuficiencia renal en el estudio que hicieron Russcher et al ¹⁵⁰, donde el uso crónico hizo que el efecto beneficioso para el sueño de dichos pacientes se fuese perdiendo.

Otros estudios corroboran lo que se sabe sobre la melatonina y es que mejora la calidad de vida por tener un sueño reparador y sano, y además actúa como antioxidante ¹⁵¹. De ahí que se estudie su aplicación en pacientes como por ejemplo hicieron Garzón et al ¹⁵² cuando vieron sus efectos en ancianos combinados con hipnóticos convencionales al igual que hicieran Rondanelli et al ¹⁵³ al combinarla con otros suplementos como el magnesio y el zinc.

Melatonina y envejecimiento

La melatonina, por sus múltiples propiedades y aplicaciones, ha sido analizada también en estudios como los de Cazzola et al ¹⁵⁴, Garzón et al, Rondanelli et al o Kedziora-Kornatowska et al ^{155,156,157} centrados todos ellos en población anciana. Los efectos más destacados eran la mejora del sueño, mejoras

en la función cognitiva y en trastornos del comportamiento, prevención de complicaciones metabólicas y cardiovasculares, e incluso mejorando la calidad de vida en pacientes con la enfermedad de Alzheimer.

Melatonina y enfermedades crónicas

Las enfermedades de este tipo son un grave problema en nuestra sociedad. Pereira ¹⁵⁸ estudió los efectos beneficiosos de la melatonina junto a otros compuestos en pacientes con ERGE. También, como se mencionó, Nunes et al (148) hicieron lo mismo en pacientes que sufrían de EPOC. Al igual que éstos, otros autores afirman el beneficio que supone la melatonina en pacientes que sufren de otros procesos crónicos tales como la diabetes ¹⁵⁹ o la hipertensión ¹⁶⁰. Si bien es cierto que algunos estudios informan de efectos de la melatonina que se pierden o incluso que puede ser contraproducentes a nivel cardiovascular ¹⁶¹.

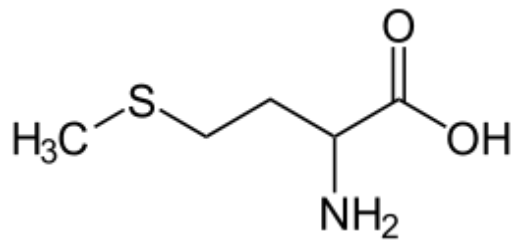
Uso de la melatonina en antropometría

El control del peso y el rendimiento deportivo son temas muy de moda en la actualidad y por ello están muy relacionados. En lo que ha rendimiento se refiere, varios estudios han demostrado poca eficacia en cuanto a esta finalidad ¹⁶² salvo aumentar el estado de alerta. Si bien es cierto que Ochoa et al ¹⁶³ vieron que se podía prever el estrés oxidativo derivado del ejercicio físico de alta intensidad.

Con respecto al control del peso parece ser que por sí sola no influye de forma significativa en disminuir el índice de masa corporal (IMC) ¹⁶⁴, sin embargo

en combinación con otros suplementos como el aceite de pescado ayuda a prevenir complicaciones en pacientes con patologías varias ¹⁶³.

3.2.- LA METIONINA



La metionina (abreviada como Met o M) es un aminoácido hidrófobo, cuya fórmula química es: HO₂CCH (NH₂) CH₂CH₂SCH₃. Al ser hidrófobo este aminoácido esencial está clasificado como no polar.

Junto a la cisteína, la metionina es uno de los dos aminoácidos proteínogénicos que contienen azufre. Este deriva de la S-Adenosil metionina (SAM), sirviendo como donante de metilos (la SAM también es usada por las plantas en la síntesis del etileno, en un proceso conocido como ciclo de la metionina o ciclo de Yang).

La metionina es un intermediario en la biosíntesis de la cisteína, la carnitina, la taurina, la lecitina, la fosfatidilcolina y otros fosfolípidos. Fallos en la conversión de metionina pueden desembocar en aterosclerosis.

Funciones de la metionina

- Ayuda a mantener en correcto estado tanto la piel como el pelo y las uñas.
- Ayuda en la descomposición de las grasas.
- Útil en la desintoxicación de determinados agentes nocivos para nuestra salud, entre ellos metales pesados como el plomo.

- Disminuye la debilidad muscular.
- Previene el cabello quebradizo.
- Protege contra los efectos perniciosos de las radiaciones.
- Reduce el nivel de histamina en el organismo.

Beneficios de la metionina para la salud

Como vemos, la metionina es un aminoácido esencial que actúa como un antioxidante natural y aporta una gran diversidad de beneficios especialmente útiles y adecuados para nuestra salud.

Por un lado ayuda a la descomposición de las grasas, de forma que evita la acumulación grasa tanto en las arterias como en el hígado (trastorno que recibe el nombre de hígado graso).

Determinados estudios han demostrado que la metionina es especialmente beneficiosa para aquellas mujeres que tomen anticonceptivos orales, al promover la excreción de estrógenos.

La S-adenosil metionina (SAME) es un metabolito celular endógeno, donante de grupos metilos en la mayoría de las reacciones biológicas de transmetilación, que participa activamente en el metabolismo de los aminoácidos sulfurados (cistina, cisteína o taurina) y del glutatión, y que está distribuida por todos los tejidos y fluidos corporales. Tanto esta sustancia, como estos aminoácidos han demostrado restaurar la función y el número de linfocitos T en la sepsis y en los procesos oncológicos. La SAME tiene también un importante efecto protector del hígado en situaciones de intoxicación (D-galactosamina, CCl₄, alcohol o acetaminofeno) y, por otra parte, antagoniza el aumento de secreción biliar inducido por los estrógenos.

La SAME evita la disminución de glutatión intracelular en respuesta a los radicales libres y resulta más eficaz que el glutatión en la eliminación de radicales hidroxilo. Por todo ello, se ha propuesto la SAME para disminuir la lesión derivada de la isquemia-reperfusión, de la sepsis y de las complicaciones que pueden aparecer en el politraumatizado.

5.-OBJETIVOS

1. Evaluar la ligadura y posterior punción del ciego en la rata Wistar como modelo experimental que produce un cuadro clínico similar a la sepsis en humanos ¹⁶⁵. Valorar la utilidad de la melatonina y de la metionina como antioxidantes y antiexcitotóxicos neuronales en dichos modelos, mediante la determinación de malonildialdehido y 4-hidroxiacetaldehído como marcadores de peroxidación de los lípidos de membrana en tejido cerebral.

6.-UTILIDAD CLÍNICA

El shock séptico es la primera causa de muerte en las unidades de cuidados intensivos (UCI) ¹⁶⁸. Un 9% de los ingresos en UCI es por sospecha de sepsis, confirmada en un 6.3% de los casos, con una mortalidad del 56% a los 28 días ¹⁶⁹. Se ha estimado que la mortalidad por sepsis en Europa Occidental está en torno a los 150.000 pacientes / año ¹⁷⁰, extrapolarlo a la población española, se producirían cerca de 74.000 casos de sepsis / año de los que un 40% presentarían shock séptico, de los que fallecerían un 35%. A pesar de los grandes avances en tratamientos de soporte vital, en antibióticos, en cirugía y en conocimientos sobre la fisiopatología de la sepsis, la mortalidad de este proceso ha permanecido inalterable en las últimas dos décadas.

El NO puede ser considerado como un marcador de todos aquellos procesos que cursan con inflamación y, considerando el relevante papel que los niveles elevados en el

shock séptico tienen en el desencadenamiento del fallo multiorgánico que lo caracteriza, poder medir sus niveles sería muy útil y de gran interés clínico.

La inhibición selectiva de la expresión de la iNOS con melatonina, ha demostrado disminuir el daño inducido por el NO y radicales libres en modelos experimentales de shock séptico en ratas ^{171, 172}. Se abre así la posibilidad de un tratamiento que puede ser capaz de detener la cadena de acontecimientos que desembocan en el fallo multiorgánico y contribuir a disminuir la mortalidad de un cuadro tan letal como el shock séptico.

7.- ASPECTOS ÉTICOS, SOCIOLÓGICOS Y ECONÓMICOS DE LA SEPSIS

Hay que considerar la importancia de la sepsis como enfermedad en las unidades de Cuidados intensivos. Es también importante tener en cuenta que los medios de soporte vital aplicados a todos los pacientes, sean irreversibles o no, pueden conducir a un proceso de maledicencia, que entran en colisión con los principios éticos fundamentales y pueden atentar contra los derechos y la dignidad de los propios pacientes.

Sabemos que los recursos económicos en España son limitados y que las camas de Medicina intensiva tienen un coste paciente/día de los más elevados del hospital, incluso en condiciones óptimas de gestión, estimando que una cama de UCI supera al menos tres veces el de una de hospitalización convencional. Esto nos obliga a utilizar protocolos de selección de enfermos para utilizar esos recursos en pacientes con expectativas razonables de recuperación y a establecer los límites a los que se debe llegar con las medidas de soporte, procedimientos que componen las medidas de Limitación de Tratamientos de Soporte Vital (LTSV).

Por tanto, debemos conocer los aspectos médico-legales y bioéticos relacionados con la práctica clínica en las Unidades de Cuidados Intensivos y con la investigación médica.

Por último, en cuanto a las consideraciones sobre la adecuación de los tratamientos a la situación clínica del paciente es imprescindible atenerse a la opinión expresada por el mismo paciente o por sus familiares, si es posible recogerlos en las denominadas "Voluntades anticipadas".

Introducción

La sepsis es una infección, sospechada o confirmada, y asociada con el fallo de uno o más órganos o sistemas. Esta definición se adoptó en la conferencia de consenso entre el *American College of Chest Physicians* y la *Society of Critical Care Medicine* (ACCP/SCCM) en 2001 y tiene como final el shock séptico.¹⁷³

Ocho millones de pacientes mueren de SEPSIS cada año en todo el mundo (aproximadamente una persona cada cuatro segundos), y se registran de 20 a 30 millones de casos. Y las previsiones son poco halagüeñas. En los últimos diez años el número de pacientes se ha duplicado, y los estudios consideran que la tendencia seguirá al alza. En los países subdesarrollados, la SEPSIS ya provoca la muerte a más de 6 millones de recién nacidos. (Datos de la SEMICYUC)

El consumo de recursos sanitarios de los pacientes con sepsis es de los mayores de todas las patologías. En España fallecen 17.000 personas cada año, más que por cáncer de mama, colon, o páncreas. Y 13 veces más que en accidentes de tráfico siendo fundamental la rapidez del tratamiento, ya que 4 horas después del shock séptico, las probabilidades de supervivencia son inferiores al 50%.

La tasa de mortalidad de la SEPSIS grave es del 36%. Una cifra que debería por sí misma haberle procurado a esta dolencia la suficiente "fama" como para ser una de las más conocidas entre la ciudadanía. Y sin embargo, la palabra SEPSIS no está en el vocabulario

habitual de la sociedad. Además, cuando la SEPSIS se desata en el paciente, cada minuto cuenta, ya que los estudios demuestran que un paciente se SEPSIS sobrevive a la dolencia en un 80% de los casos si se le aplica el tratamiento durante la primera hora. A partir de la cuarta hora, la estadística dice que su probabilidad de curación es menor al 50%, y a partir de las doce horas la esperanza de supervivencia se limita a un 15-20% de probabilidad

El coste económico medio aproximado del tratamiento y hospitalización de un paciente con SEPSIS es de unos 17.000 euros por persona. Una cifra comparativamente muy inferior al coste de otros países del entorno, como Alemania (de 25.000 a 50.000 euros) o al de Estados Unidos (datos de la SEMICYUC), La sepsis conlleva una importante carga económica, que se ha estimado que en España podría estar alrededor de los 345 millones de euros anuales. Datos de la SEMICYUC)

El riesgo de fallecimiento es en el shock séptico muy elevado y en la actualidad a pesar de que los avances terapéuticos han disminuido el porcentaje de pacientes que fallecen a consecuencia de la sepsis, el aumento de su incidencia está dando lugar a un incremento en el número total de fallecimientos, identificable en las estadísticas de mortalidad, ya que se trata de un proceso con una elevada letalidad que puede situarse entre el 30% y el 40% a los 28 días. Estos datos tienen tanta importancia que se ha declarado el día 13 de septiembre, Día Mundial de la SEPSIS, lo que intentará concienciar a los profesionales sanitarios y la población general la importancia de este tema.

En un estudio realizado en la comunidad de Madrid ^{173 bis}, para conocer las características generales de la sepsis se calcularon las tasas poblacionales de incidencia de hospitalización anual de sepsis grave según grupos de edad y sexo por 10.000 habitantes. Se obtuvieron las estancias medias y el coste total y se realizó un estudio de la mortalidad

por sepsis, obteniendo el porcentaje de altas por fallecimiento por grupos de edad y sexo y analizando el efecto de las diferentes variables consideradas sobre la probabilidad de fallecer mediante el cálculo de las *odds ratio* crudas con el intervalo de confianza al 95%.

TABLA 1. Características generales de la muestra: número de episodios, fallecidos, *odds ratio* cruda de mortalidad, estancia media y coste según sexo, grupos de edad y número de infecciones

173 bis

Característica	Episodios (%)	Fallecidos (%)	OR Cruda e IC95%	Estancia media e IC95%	Coste global (en euros)	
Sexo						
Mujeres	2.809 (40,3)	902 (32,1)	1	28,9	27,2-30,6	26.085.905,38 €
Hombres	4.159 (59,7)	1.399 (33,6)	1,07	29,0	27,8-30,2	43.994.044,62 €
Grupo de edad						
< 1	404 (5,8)	47 (11,6)	1	52,2	47,9-56,5	7.452.417,64 €
1-14	208 (3,0)	29 (13,9)	1,23	31,4	24,0-38,8	2.023.449,18 €
15-34	387 (5,6)	71 (18,3)	1,70	37,5	33,1-41,8	5.266.016,51 €
35-49	642 (9,2)	194 (30,2)	3,28	34,1	29,9-38,4	7.541.084,21 €
50-65	1.045 (15,0)	369 (35,3)	4,14	33,6	30,8-36,5	13.381.018,84 €
65-74	1.456 (20,9)	571 (39,2)	4,89	32,2	29,9-34,5	16.344.549,75 €
75-84	1.690 (24,3)	618 (36,6)	4,37	22,0	20,5-23,6	12.461.829,06 €
85 y más	1.136 (16,3)	402 (35,4)	4,15	16,2	14,5-17,9	5.609.584,81 €
Número de infecciones						
1	3.582 (51,4)	1.107 (30,9)	1	21,8	20,8-22,9	29.514.133,73 €
2	2.166 (31,1)	751 (34,7)	1,19	29,3	27,6-30,9	21.881.908,54 €
3 o más	1.220 (17,5)	443 (36,3)	1,28	49,2	45,7-52,8	18.683.907,73 €
Total	6.968	2.301 (33,0)		28,9	27,9-29,9	70.079.950,00 €

(173 bis)

Según el estudio, la estancia media fue de 28,9 días.

El coste total estimado de la atención a la sepsis grave en la Comunidad de Madrid es de 70 millones de euros.

Este importante estudio es el primero en España que estima la incidencia poblacional y mortalidad de la sepsis con datos clínicos obtenidos de forma prospectiva; aunque referidos a una zona de Madrid, sus cifras parecen extrapolables al resto del país, y son consistentes con las publicadas en otros países.

Según este estudio las disfunciones orgánicas más frecuentes fueron la renal (39,7%) y respiratoria (35,7%).

Un porcentaje alto de pacientes (61,6%) presentaban además de sepsis severa comorbilidades importantes referida como alguna de las siguientes patologías: neoplasia, diabetes mellitus, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), insuficiencia cardíaca, cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular o cirrosis. La mortalidad global intrahospitalaria fue de un 33%.

Los costes generados por la sepsis grave suponen unos 10.000 euros por episodio. Esta cifra es más baja que la estimada en Estados Unidos (34.000 euros por caso) u otros países europeos (de 23.000-29.000 euros por caso). Como en otros estudios, en este trabajo también se observa cómo el coste en los episodios que fallecen (11.199,9 euros) es superior al de los que no fallecen (9.494,1 euros), posiblemente por la mayor gravedad que presentan dichos pacientes y al mayor esfuerzo terapéutico que reciben.

En otro estudio realizado por Jesus Blanco et al, y publicado en Critical Care en 2008, en el que revisa los pacientes ingresados en la UCI del Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, con un total de 4.317 pacientes que fueron admitidos y 2.619 pacientes fueron elegibles para el estudio; 311 (11,9%) presentaron al menos 1 episodio de sepsis grave y 324 (12,4%) episodios de sepsis grave. La incidencia acumulada estimada para la población fue de 25 casos de sepsis grave atendida en UCI por 100.000 habitantes al año. El sistema logístico de disfunción orgánica (LODS) al ingreso fue de 6,3;

Los hallazgos más importantes de este estudio fueron:

- a) la alta incidencia (12,4%) de sepsis grave en la UCI y alta mortalidad tanto en la UCI (48,2%) como en el hospital (54,3%);
- b) asociación de sepsis grave con UCI prolongada y hospitalización (mediana de 10 días y 24 días, respectivamente);

c) los factores asociados con la muerte temprana fueron insuficiencia hematológica e insuficiencia hepática en el momento del diagnóstico, adquisición de la infección antes de la admisión a la UCI y puntuación total de LODS;

d) los factores asociados con la muerte en el hospital fueron la edad, el abuso crónico del alcohol, el aumento de la puntuación de McCabe, el aumento de la puntuación de LODS, el Δ SOFA 3-1 y la evolución de la puntuación SOFA.

El grupo EPISEPSIS encontró una incidencia de sepsis grave o choque séptico de 14,6% entre los pacientes ingresados en la UCI, y Finfer et al. Encontró 11,8 casos de sepsis grave por cada 100 admisiones a la UCI. Diferentes autores han sugerido que esta progresión podría estar relacionada con el uso de inmunosupresores, la desnutrición hospitalaria, el alcoholismo, el cáncer, la diabetes mellitus, la creciente invasividad de las medidas diagnósticas y terapéuticas, el aumento de la resistencia de los microorganismos y el envejecimiento progresivo de la población.

La media de sepsis relacionados con el score de fallo de órganos (SOFA) puntuación en el primer día fue de 9,6. Dos o más fracasos de órganos estuvieron presentes en el diagnóstico en el 78,1% de los pacientes. El diagnóstico microbiológico de la infección se alcanzó en 209 episodios de sepsis (64,5%) y el diagnóstico clínico más frecuente fue neumonía (42,8%). Un total de 169 pacientes (54,3%) murieron en el hospital, 150 (48,2%) de ellos en la UCI. La mortalidad en las primeras 48 h fue de 14,8%. Los factores asociados con la muerte temprana fueron insuficiencia hematológica e insuficiencia hepática en el momento del diagnóstico, adquisición de la infección antes de la admisión a la UCI y puntuación total de LODS al ingreso. Los factores asociados con la muerte en el hospital fueron la edad, el abuso crónico del alcohol, el aumento de la puntuación de McCabe, el aumento del LODS al ingreso, el Δ SOFA 3-1 (definido como la diferencia en las

puntuaciones totales del SOFA en el día 3 y el día 1) El área bajo la curva de la puntuación SOFA durante los primeros 15 días.

Es interesante conocer que en Andalucía existe un proceso asistencial integrado (PAI), editado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía en el año 2010. La implantación de este Proceso Asistencial Integrado (PAI) de Sepsis Grave está dirigido a incluir actividades precoces, que siguen una secuencia determinada: la categorización del nivel de gravedad, el traslado a la Unidad Asistencial adecuada, la resucitación inicial, la estabilización y las medidas de soporte; y acompañadas de características de calidad, que incorporan recomendaciones basadas en la evidencia (Medicina Basada en la Evidencia): información y seguridad para el paciente, guía de práctica clínica sobre todo de la "campaña sobrevivir a la sepsis".

Por último hay que apuntar el esfuerzo de numerosas Sociedades Científicas firmantes de un manifiesto en noviembre del 2012 solicitando a las autoridades sanitarias en general para que promuevan la creación de un **código sepsis** a nivel estatal y en las diferentes CCAA. El objetivo del "código sepsis" es la detección precoz de los pacientes con sepsis grave (en los diferentes niveles asistenciales), la aplicación estructurada del conjunto de medidas recomendadas para diagnosticar, monitorizar y tratar estos enfermos y la definición de unos indicadores asistenciales que permitan evaluar el cumplimiento de las recomendaciones y los resultados de la aplicación del código a nivel local y nacional. La optimización del manejo de la sepsis se asociará con una reducción de los costes asistenciales que se cuantifican en el momento actual en torno a 17.000 euros por caso. Las sociedades firmantes de este documento consideran que es competencia de las autoridades sanitarias la implementación y difusión del "Código sepsis" y manifiestan su voluntad de colaborar en la elaboración de los contenidos del código, en la formación del personal sanitario y en el control de su aplicación en los diversos escenarios sanitarios. La

existencia de un “Código sepsis” en nuestro país significará una mejoría en la asistencia de nuestros pacientes, que es el principal objetivo de todos aquellos profesionales comprometidos en su atención.

Las Sociedades Participantes son:

Sociedad Española de Medicina Intensiva y Cuidados Coronarios (SEMICYUC)

Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)

Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria (SEMFYC)

Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias (SEMES)

Sociedad Española de Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor (SEDAR)

Sociedad Española de Quimioterapia (SEQ)

Asociación Española de Cirugía (AEC)

Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI)

Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR)

Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEFH)

Sociedad Española de Hematología (SEHH)

Sociedad Española de Directivos de Salud (SEDISA)

Asociación Española de Pediatría (AEP)

Asociación Española de Micología (AEM)

MATERIAL Y MÉTODOS

II. MATERIAL Y MÉTODOS

1.-ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:

Se ha diseñado un estudio experimental simple ciego con la utilización de ratas Wistar macho de 250-300 gramos (50 ratas) , empleando un grupo de intervención de 80% (40 ratas) y un grupo control de otros 20% (10 ratas).

Se realizó el mantenimiento de las ratas en jaulas individuales, en un recinto con control de temperatura entre 22° y 24° y un ciclo de luz / oscuridad de 12 horas cada uno. La alimentación de las ratas se llevó a cabo con pienso A04, específico y balanceado para este tipo de animales, proporcionado por el CIC de la Universidad de Granada y agua *ad libitum*.

2.-ALEATORIZACIÓN:

Tras un período de adaptación de 4 días, se comprobó mediante inspección individual que los animales no presentan lesiones externas, posteriormente se les asignará alternativamente al grupo control (**GC**) , o al grupo de intervención (**GI**) , de los cuales se subdividió a su vez en cuatro grupos, grupo punción (con las siglas GI), grupo de la melatonina (con la siglas GM), grupo de la metionina (con la siglas GD) y grupo de ambas, melatonina metionina (con la siglas GDM) marcándolos con anillas con dichas siglas respectivamente, asignándole un número de orden. A los animales con metionina (GD) y Melanina-Metionina (GDM) se les mantuvo con nutrición rica en metionina durante cinco semanas previas al protocolo experimental.

Previamente al inicio del protocolo experimental, se mantuvo a los animales en ayunas durante un período de 8 a 12 horas, para lo cual se retiró la cestilla de alimentación de cada una de las jaulas.

La asignación de los individuos a los tratamientos se llevó a cabo de forma aleatoria

3.-PROTOCOLO EXPERIMENTAL:

- Sedación de la rata con éter, y posterior anestesia mediante ketamina intraperitoneal con una dosis de 100 mg/kg.
- Implantación de un catéter tipo bránula del 18G, por vía subcutánea en región interescapular, para seguidamente iniciar una infusión de S. fisiológico de 5 ml por cada 100 g. de peso, durante el período de intervención quirúrgica. Posteriormente se administrará por vía intraperitoneal placebo o melatonina, según el grupo al que perteneciera el animal.
- Producción de sepsis mediante ligadura y punción cecal (LPC), según técnica de Wichterman y cols. (173) , siguiendo los siguientes pasos:
 - Colocación de la rata en decúbito supino con fijación de las cuatro extremidades al plano de la mesa, mediante ligaduras.
 - Aplicación de crema depilatoria en el abdomen, hasta conseguir la liberación completa de pelos.
 - Limpieza del tórax, abdomen y parte proximal de las extremidades con suero fisiológico, para posteriormente proceder a la aplicación de povidona yodada en el abdomen.
 - Apertura de la cavidad peritoneal, mediante laparotomía media amplia.
 - Localización y liberación del ciego.

- Drenado retrógrado de las heces del colon ascendente hacia el ciego, mediante presión manual.
 - Ligadura del ciego, justo por debajo de la válvula ileocecal, con seda de 3-0
 - Punción simple de la superficie cecal antimesentérica, con aguja de 18-G.
 - Recolocación del paquete intestinal.
 - Cierre de la laparotomía y tinción con povidona yodada de la herida laparotómica.
 - Durante el procedimiento quirúrgico se realizaron irrigaciones del peritoneo con suero fisiológico a temperatura ambiente, para mantener la humedad de la cavidad peritoneal.
- Una vez realizada la técnica quirúrgica, se procedió a la inyección intraperitoneal del preparado de melatonina a una dosis de 10 mg por kg de peso en las ratas asignadas al grupo GM, al siguiente grupo de 10 ratas se le administró una dosis de 1 mg/kg (durante 5 semanas previas con dieta rica en metionina) asignadas al grupo de GD y al siguiente grupo de ratas se les administró 10 mg de melatonina intraperitoneal y además 1 mg/kg de metionina oral en dieta con siglas GMD . Por último se instiló su equivalente en mililitros de placebo, utilizándose L-lisina, en las ratas asignadas al grupo control, con las siglas GC.
 - Tras comprobar el despertar completo del animal, se instalaron de nuevo en sus jaulas.

4.-SEGUIMIENTO DE LOS ANIMALES:

Durante el proceso de experimentación fallecieron algunos animales, todos ellos en las cinco semanas previas a la ligadura y punción cecal (LPC) que fueron sustituidos en su totalidad por otros animales de iguales características.

Cada ocho horas se realizó una observación individualizada de cada animal en el interior de su jaula. Posteriormente se sacaron, procediéndose a la inspección de la herida quirúrgica y administrando, por vía intraperitoneal, una nueva dosis, igual a la primera, del fármaco experimental o de placebo.

En los animales que se les administró metionina, durante 5 semanas previas a la punción de ciego, se les administró una dosis de metionina en la dieta, equivalente a 1 mg/k/día.

Tras la ligadura y punción cecal (LPC) se hizo un seguimiento de cada uno de los animales en las tres fases del estudio. Todos los animales se recuperaron totalmente de la anestesia, aproximadamente a los 15 minutos de la misma, comenzando a deambular, beber e iniciando acciones de acicalamiento.

A las 24 horas los animales presentaban piloerección, ojos vidriosos con exudado parpebral, y disminución del consumo de agua y comida. Algunos tenían algo de diarrea. Al cogerles para explorarles mostraban poca lucha.

A las 60 horas de la ligadura y punción cecal (LPC), los animales se acicalaban y se movían con normalidad. No había alteraciones en el consumo de agua y alimentos.

A las 72 horas, antes de proceder a la obtención de muestras, todos los animales presentaban un aspecto y comportamiento normal.

5.-PROCEDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE MUESTRAS:

Transcurridas 72 horas desde la terminación del protocolo quirúrgico, entre las 9 h. y 10 h. a.m., se procedió a la anestesia del animal, con idéntica técnica a la previamente descrita. Posteriormente, tras la reapertura de la laparotomía e inspección de la cavidad abdominal, se procedió a la realización de craneotomía y extracción del cerebro.

Inmediatamente después de obtener cada muestra, esta se sumergió en nitrógeno líquido hasta su congelación, introduciéndose posteriormente en un tubo de ensayo cerrado, el cual se etiquetaba y se almacenaba en un congelador con una temperatura de -80°C .

6.- RESULTADOS

6.1-DETERMINACIONES REALIZADAS EN LAS MUESTRAS DE CEREBRO:

- *Malonildialdehido (MDA) y 4 hidroxialkenal (4-HDA):* La LPO es la oxidación de los lípidos de membrana. El radical hidroxilo es el responsable de iniciar la LPO al captar un átomo de hidrógeno de la cadena de ácido graso dando lugar a la formación de peroxilos lipídicos. Estos productos se van descomponiendo formando nuevos radicales iniciándose un proceso en cadena que conduce a la destrucción de los lípidos de la membrana dando como productos finales aldehídos. El malonaldehído (MDA) y el 4-hidroxialkenal (4-HDA), que se van formando como consecuencia de la rotura de los ácidos grasos poliinsaturados, se utilizan como marcadores del grado de LPO. Aproximadamente 100 mg de cerebro se homogenizan con tampón Tris-HCl 20 mM a pH 7.4 en una proporción 1/10 utilizando el homogenizador Stuart Scientific. El homogenizado se centrifuga a 2500 g durante 10 minutos a 4°C . Alícuotas del sobrenadante se guardan a -20°C para la posterior determinación de proteínas (Lowry, 1951) o para la determinación de los

niveles de peroxidación lipídica. Las concentraciones de malonildialdehído (MDA) y 4-hidroxiálkenal (4HDA) proveen un índice conveniente de la peroxidación lipídica¹⁷⁴. Se utiliza el kit Bioxytech LPO-568 kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). El kit contiene un reactivo cromógeno (N-metil-2-fenilindol) que reacciona con MDA y 4HDA a 45°C formándose un cromóforo estable con un máximo de absorbancia a 586 nm. Una vez obtenida la concentración de MDA y 4HDA se dividirá por la concentración de proteínas determinada a partir del método de Lowry y se expresarán los resultados en micromoles de MDA y 4HDA por miligramos de proteínas.

Protocolo: El LPO-586 ensayo está basado en la reacción de un reactivo cromógeno, N-metil-2-fenilindol (R_1) con MDA más 4-HDA a 45°C. Una molécula de cada MDA o 4-HDA reacciona con dos moléculas de reactivos R_1 para producir un cromóforo estable con una máxima absorbancia a 586nm.

- *Proteínas:* se realizó mediante un método colorimétrico descrito por Lowry¹⁷⁵. Se hace reaccionar 50 μ l de la muestra con 200 μ l de reactivo de Lowry que contiene 98% de una solución A ($CO_3Na_2 + NaOH$), el 1% de una solución B (SO_4Cu) y 1% de una solución C (tartrato Na-K). Se incuba 10 minutos a temperatura ambiente. Se añade 50 μ l del reactivo de Folin diluido con agua destilada al 1/10. Se incuba a temperatura ambiente durante 30 minutos y se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 650 nm.

6.2-TABLAS DE RESULTADOS

6.2.1-GRUPO CONTROL. Ratas sanas sin intervención ni sepsis

MUESTRA	MDA + 4HDA
GC-1	3.039
GC-2	4.546
GC-3	5.711
GC-4	3.311
GC-5	7.370
GC-6	3.290
GC-7	4.728
GC-8	3.921
GC-9	5.228
GC-10	4.629

6.2.2-GRUPO INTERVENCIÓN. Ratas con punción de ciego y sin tratamiento alguno.

MUESTRA	MDA + 4HDA
GI-1	7.192
GI-2	8.240
GI-3	10.128
GI-4	12.324

GI-5	9.879
GI-6	11.547
GI-7	12.987
GI-8	9.276
GI-9	7.987
GI-10	8.987

6.2.3-GRUPO METIONINA. Ratas con punción de ciego y cinco semanas de dieta rica en metionina.

MUESTRA	MDA + 4HDA
GD-1	7.496
GD-2	6.820
GD-3	6.854
GD-4	6.121
GD-5	7.821
GD-6	9.123
GD-7	7.560
GD-8	5.810

GD-9	7.210
GD-10	6.980

6.2.4-GRUPO MELATIONINA. Ratas con punción de ciego y Melatonina.

MUESTRA	MDA + 4HDA
GM-1	6.234
GM-2	7.153
GM-3	6.890
GM-4	5.815
GM-5	6.724
GM-6	6.183
GM-7	6.920
GM-8	8.180
GM-9	6.615
GM-10	5.925

6.2.5-GRUPO Metionina + Melatonina. Ratas con punción de ciego y con ambos tratamientos.

MUESTRA	MDA + 4HDA
GDM-1	6.289
GDM-2	6.015
GDM-3	6.210
GDM-4	8.183
GDM-5	5.267
GDM-6	5.158
GDM-7	6.821
GDM-8	6.287
GDM-9	4.756
GDM-10	5.016

7.-ESTUDIO ESTADÍSTICO:

Tras la introducción de los datos obtenidos en el estudio bioquímico de las muestras, en el programa estadístico SPSS v. 21.0 ¹⁷⁶, se procedió a su análisis siguiendo los patrones recomendados en la literatura ¹⁷⁷.

Para contrastar la normalidad de la muestra se utilizó el test de Shapiro–Wilk ¹⁸⁰ ya que se considera uno de los test más potentes para el contraste de normalidad, sobre

todo para muestras pequeñas ($n < 50$). Siendo la hipótesis nula que la población está distribuida normalmente, si el p-valor es menor a alfa (nivel de confianza) entonces la hipótesis nula es rechazada (se concluye que los datos no vienen de una distribución normal). Si el p-valor es mayor a alfa, no se rechaza la hipótesis y se concluye que los datos siguen una distribución normal. (Cuadro 1)

- La homogeneidad en la dispersión fue contrastada a partir del test de Lévene que es utilizada para evaluar la igualdad de las varianzas para una variable calculada para dos o más grupos. Se pone a prueba la hipótesis nula de que las varianzas poblacionales son iguales (llamado homogeneidad de varianzas u homocedasticidad). Si el P-valor resultante de la prueba de Levene es inferior a un cierto nivel de significación (típicamente 0.05), es poco probable que las diferencias obtenidas en las variaciones de la muestra se hayan producido sobre la base de un muestreo aleatorio de una población con varianzas iguales. Por lo tanto, la hipótesis nula de igualdad de varianzas se rechaza y se concluye que hay una diferencia entre las variaciones en la población (182) (Cuadro 2).
- El resumen descriptivo de la variable bioquímica estudiada en cerebro se llevó a cabo mediante la media, desviación típica, error estándar de la media, mínimo y máximo, adjuntándose asimismo un intervalo de confianza para la media en cada uno de los grupos experimentales (Cuadro 3)
- A partir de los resultados de los tests de normalidad y de homocedasticidad, se utilizó el Análisis de la Varianza (ANOVA), junto con el test de Games-Howell para llevar a cabo las comparaciones múltiples. En todos los contrastes de hipótesis se fijó el nivel de significación en $\alpha = 0.05$.

- En cada uno de los grupos objeto de estudio, la normalidad fue contrastada mediante el test de Shapiro-Wilk. El resumen descriptivo de la variable se llevó a cabo mediante la media, desviación típica, error estándar de la media, mínimo y máximo, adjuntándose asimismo un intervalo de confianza para la media en cada uno de los grupos experimentales. La homogeneidad en la dispersión fue contrastada a partir del test de Lévene.
- El nivel de significación estadística se estableció a partir del 95% o mayor, calculándose el grado de significación mediante una de las opciones del paquete estadístico empleado.
- Se construyó una hipótesis nula (H_0), tratando de rechazarla mediante la prueba estadística oportuna a cada caso, y una hipótesis alternativa (H_1), que será aceptada en caso de rechazar la primera.
- Se realizó la comparación de dos medias mediante la "t" de Student-Fisher, para determinar la relación entre una variable cualitativa con dos categorías y una variable cuantitativa. La solución alternativa no paramétrica, se realizará mediante la prueba de Mann-Witney.

Los resultados obtenidos se describen a continuación

Análisis estadístico

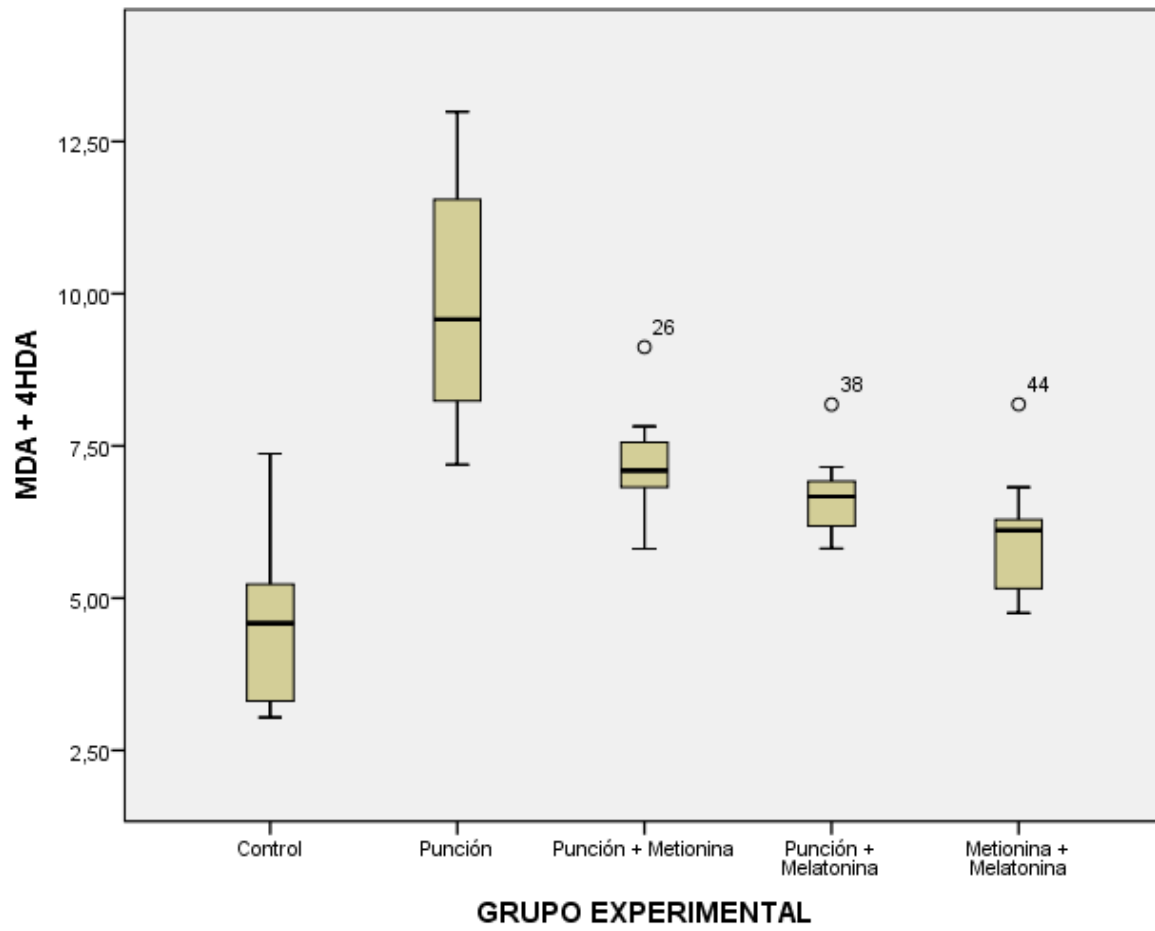
Cuadro 1 Pruebas de normalidad

GRUPO EXPERIMENTAL			Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
			Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
MDA 4HDA	Control		,154	10	,200*	,923	10	,387
	Punción		,143	10	,200*	,955	10	,729
	Punción	+	,149	10	,200*	,951	10	,677
	+ Metionina							
	Punción	+	,156	10	,200*	,924	10	,395
	Melatonina							
	+ Metionina	+	,189	10	,200*	,916	10	,321

Cuadro 2 Prueba de homogeneidad de la varianza

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
MDA 4HDA	Basándose en la media	2,731	4	45	,041
	Basándose en la mediana.	2,628	4	45	,047
	+ Basándose en la mediana y con gl corregido	2,628	4	32,911	,052
	Basándose en la media recortada	2,747	4	45	,040

MDA + 4HDA



ANOVA de un factor

Descriptivos

MDA + 4HDA

	n	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo
					Límite inferior	Límite superior	
Control	10	4,5773	1,31622	,41623	3,6357	5,5189	3,04
Punción	10	9,8547	1,91837	,60664	8,4824	11,2270	7,19
Punción + Metionina	10	7,1795	,92530	,29260	6,5176	7,8414	5,81
Punción + Melatonina	10	6,6639	,69468	,21968	6,1670	7,1608	5,82
Metionina + Melatonina	10	6,0002	1,02262	,32338	5,2687	6,7317	4,76
Total	50	6,8551	2,12257	,30018	6,2519	7,4583	3,04

Descriptivos

MDA + 4HDA

	Máximo
Control	7,37
Punción	12,99
Punción + Metionina	9,12
Punción + Melatonina	8,18
Metionina + Melatonina	8,18
Total	12,99

Prueba de homogeneidad de varianzas

MDA + 4HDA

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,731	4	45	,041

ANOVA de un factor

MDA + 4HDA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	150,586	4	37,647	24,141	,000
Intra-grupos	70,174	45	1,559		
Total	220,760	49			

Pruebas robustas de igualdad de las medias

MDA + 4HDA

	Estadístico ^a	gl1	gl2	Sig.
Welch	13,714	4	21,990	,000
Brown-Forsythe	24,141	4	29,410	,000

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: MDA + 4HDA

Games-Howell

(I) GRUPO EXPERIMENTAL	(J) GRUPO EXPERIMENTAL	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Control	Punción	-5,27740*	,73570	,000
	Punción + Metionina	-2,60220*	,50878	,001
	Punción + Melatonina	-2,08660*	,47064	,005
	Metionina + Melatonina	-1,42290	,52709	,096
Punción	Control	5,27740*	,73570	,000
	Punción + Metionina	2,67520*	,67352	,012
	Punción + Melatonina	3,19080*	,64519	,003
	Metionina + Melatonina	3,85450*	,68745	,001
Punción + Metionina	Control	2,60220*	,50878	,001
	Punción	-2,67520*	,67352	,012
	Punción + Melatonina	,51560	,36589	,631
	Metionina + Melatonina	1,17930	,43611	,093

	Control	2,08660*	,47064	,005
	Punción	-3,19080*	,64519	,003
Punción + Melatonina	Punción + Metionina	-,51560	,36589	,631
	Metionina + Melatonina	+,66370	,39094	,463
	Control	1,42290	,52709	,096
Metionina + Melatonina	+ Punción	-3,85450*	,68745	,001
	Punción + Metionina	-1,17930	,43611	,093
	Punción + Melatonina	-,66370	,39094	,463

Comparaciones múltiples

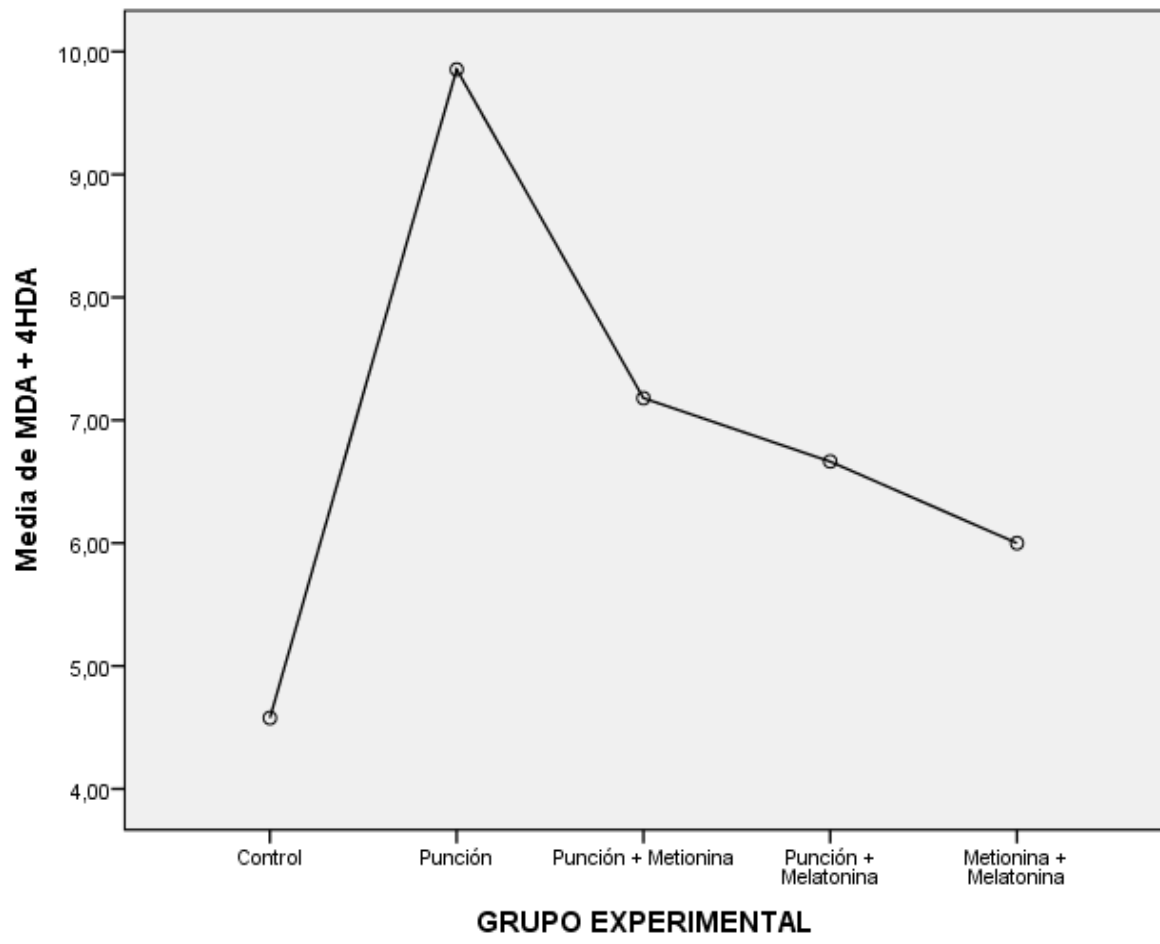
Variable dependiente: MDA + 4HDA

Games-Howell

(I) GRUPO EXPERIMENTAL	(J) GRUPO EXPERIMENTAL	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
Control	Punción	-7,5324*	-3,0224
	Punción + Metionina	-4,1592*	-1,0452
	Punción + Melatonina	-3,5582*	-,6150
	Metionina + Melatonina	-3,0269	,1811
Punción	Control	3,0224*	7,5324
	Punción + Metionina	,5538*	4,7966
	Punción + Melatonina	1,1145*	5,2671
	Metionina + Melatonina	1,7068*	6,0022
Punción + Metionina	Control	1,0452*	4,1592
	Punción	-4,7966*	-,5538
	Punción + Melatonina	-,5998	1,6310
	Metionina + Melatonina	-,1408	2,4994
Punción + Melatonina	Control	,6150*	3,5582
	Punción	-5,2671*	-1,1145
	Punción + Metionina	-1,6310	,5998
	Metionina + Melatonina	-,5354	1,8628
Metionina + Melatonina	Control	-,1811	3,0269
	Punción	-6,0022*	-1,7068
	Punción + Metionina	-2,4994	,1408
	Punción + Melatonina	-1,8628	,5354

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Gráfico de las medias



III. DURACIÓN

III. DURACIÓN

El proceso experimental descrito tuvo una duración de 12 meses; con las siguientes características:

1.-modelo experimental:

Cuando buscamos un modelo experimental para el estudio de la sepsis, este tiene que ser lo suficientemente controlado y reproducible para que nos permita obtener muestras de forma repetida, en la misma situación clínica y por tanto podamos obtener resultados con significación estadística.

1.1.-animal de experimentación:

En nuestro estudio hemos elegido como animal de experimentación la rata Wistar, dado que los estudios experimentales con animales pequeños poseen varias ventajas: son animales baratos, genéticamente idénticos, es más fácil que todos sean de igual edad y sexo, libres de patógenos específicos y sometidos a igual dieta. Por otro lado, en el diseño de nuestro estudio no se ha precisado monitorización hemodinámica, ni metabólica que precisara repetidas mediciones o extracciones de sangre, por lo que no era necesario un animal de mayor tamaño.

1.2.-técnica experimental:

La técnica experimental utilizada para la producción de sepsis en la rata Wistar, ha sido la ligadura y posterior punción del ciego. Se eligió esta técnica porque se trata de un modelo que produce un cuadro clínico similar a la sepsis en humanos, sigue un patrón muy reproducible, y según el tamaño y número de punciones se puede determinar el intervalo de seguimiento. Así mismo se encuentra bien descrita la evolución que siguen estos animales así como su correlación con el cuadro séptico en el humano. Este modelo

descrito por Wichterman y cols ¹⁷³ , ha sido ampliamente empleado por diversos autores, para estudiar diversos aspectos relacionados con la sepsis ¹⁸³. Existen otros modelos experimentales de producción de sepsis, pero presentan una serie de inconvenientes.

El modelo basado en la infusión intravenosa de endotoxinas tiene unas características clínicas y metabólicas diferentes de la sepsis en el hombre. Así en el shock endotóxico la descarga α -adrenérgica provoca un aumento de las resistencias vasculares sistémicas, mientras que en el shock séptico están disminuidas. También en la endotoxemia la neoglucogénesis hepática está inhibida, mientras que en la sepsis está aumentada y además no puede ser inhibida por la administración exógena de glucosa.

La infusión intravenosa de bacterias no sigue una evolución similar a la sepsis en el hombre. Cuando la infusión se realiza de forma aguda, se produce la muerte del animal en poco tiempo, por otro lado, la administración de forma intermitente sobrepasa rápidamente la capacidad de respuesta del animal y no produce el cuadro clínico completo. Cuando la infusión se realiza de forma prolongada y continua, el huésped no tiene posibilidad de aislar el foco séptico. Sin embargo este modelo puede ser útil para el estudio de la cinética de aclaramiento de bacterias desde la sangre.

La provocación de abscesos intramusculares mediante la implantación de material fecal son más útiles para el estudio de la respuesta inflamatoria ya que no producen un cuadro de shock séptico y no suelen ser mortales, pero no desarrolla cuadros de sepsis en los roedores.

La implantación intraperitoneal de material fecal, tiene el inconveniente de que se trata de una situación no controlada, por lo que es difícilmente reproducible, además algunas especies son resistentes a su propia materia fecal. El cuadro de peritonitis, inducido con esta técnica se reproduce bien, pero para que el modelo sea reproducible es

necesario el recuento bacteriano del inóculo, lo que complica el modelo. La administración intraperitoneal de organismos vivos produce un cuadro de shock endotóxico y no séptico, sin embargo este modelo es muy útil para el estudio del aclaramiento bacteriano del peritoneo.

La ligadura del ciego, sin punción del mismo, da lugar a la formación de un absceso localizado y no desarrolla peritonitis, así pues se trata de un cuadro no mortal, incluso con un seguimiento de un mes.

2.-PEROXIDACIÓN LIPÍDICA: MDA + 4HDA

El objetivo primordial de nuestro estudio es valorar si el aporte exógeno de melatonina y metionina en ratas, con sepsis experimental, produce una disminución de MDA y 4HDA, como indicador de peroxidación de los lípidos de membrana, en órganos centrales como el cerebro.

Como ya se argumentó, en la sepsis, la fuente de radicales libres de oxígeno es muy amplia, incluyendo el metabolismo de eicosanoides, la cadena de transporte de electrones mitocondrial, los procesos de isquemia-reperfusión con activación de la xantino-oxidasa, la cadena respiratoria de los fagocitos y el óxido nítrico. Además se conoce que pueden producirse fenómenos de sinergia entre varias fuentes de radicales libres, como por ejemplo ocurre cuando la elastasa de los PMN activa la xantino deshidrogenasa produciéndose xantino oxidasa, y por otro lado, los radicales por si mismos pueden activar la vía del ácido araquidónico, con lo que los eicosanoides reactivan a los PMN¹⁸⁴.

La producción de radicales libres de oxígeno es tal en esta situación, que se le atribuye entre el 10% y el 50% del aumento del consumo de oxígeno producido durante la sepsis ¹⁸⁵. Así en estudios experimentales in vitro, se demuestra que las lesiones celulares producidas por estrés oxidativo, son similares a las que se producen en animales

de experimentación sépticos. Los estímulos que activan a los polimorfonucleares y macrófagos –o células de Kúpffer- para liberar estos compuestos son varios, pero principalmente son los compuestos bacterianos. Aunque los radicales libres son necesarios para que estas células destruyan a las bacterias, la producción de cantidades masivas, va a producir lesiones tisulares.

Algunos autores sugieren que los radicales libres intervienen como una importante vía de lesión neuronal en diversas situaciones. SC Bondy y CP Lebell ¹⁸⁶, consideran también que los radicales libres son una vía común de expresión de neurotoxicidad. Por otro lado, otros autores estiman que la peroxidación lipídica secundaria a la acción de los radicales libres conduce a cambios en los neurotransmisores, los cuales posteriormente condicionan alteraciones en el sistema nervioso ¹⁸⁷.

Los ácidos grasos poliinsaturados, que constituyen los fosfolípidos de las membranas celulares, son altamente vulnerables al ataque de los radicales libres. Estos en presencia de hierro, al reaccionar con los ácidos grasos insaturados, producen peróxidos lipídicos en una reacción irreversible. Los peróxidos a su vez, pueden descomponerse hasta otros productos altamente tóxicos, como son los aldehídos, los cuales pueden producir nuevas lesiones o bien inactivar receptores y/o enzimas de membrana.

El malonildialdehído (MDA) es un producto final de la peroxidación de lípidos, que es estable, simple, fiable y sensible indicador de lesión oxidativa¹⁸⁹. Este ha sido uno de los indicadores que estudiamos como índice de lesión celular por radicales libres en nuestro modelo experimental. La determinación de MDA, así como la de 4-HDA, como marcadores de lesión oxidativa, es necesario debido a que los radicales libres tienen una vida media muy corta y las técnicas que permiten un estudio directo son muy complejas, no estando a nuestro alcance.

La técnica más frecuente utilizada para valorar la presencia de lesiones oxidativas por radicales libres, es la determinación de productos derivados de la peroxidación de lípidos. De estos los más utilizados son aquellos compuestos formados por 3 carbonos, que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico y que se utilizan como un índice de producción de MDA.¹⁰² Se conoce que la reacción de los radicales libres, sobre los lípidos constituyentes de las membranas biológicas produce lípidos peroxidados, incluyendo el MDA y el 4HDA, los cuales pueden ser determinados ¹⁸⁹.

Esta reacción produce una sustancia cromófora, llamada especie reactiva con el ácido tiobarbitúrico, que tiene un alto coeficiente de extinción a 532 nm, por lo que puede ser detectado por reacciones colorimétricas.

Pese a todo, la determinación de MDA y 4HDA, como marcadores de lesiones oxidativas, tiene varias limitaciones:

- El MDA es una sustancia muy reactiva por lo que se une a una gran variedad de macromoléculas, por lo que su determinación puede infravalorar la cantidad total generada durante el estrés oxidativo ¹⁹⁰.
- La oxidación de otros compuestos celulares, además de la membrana, puede producir también MDA, por lo que este no procede exclusivamente de la peroxidación de lípidos de membrana ¹⁹¹.
- La técnica de determinación de MDA es muy sensible, pero poco específica, siendo esto más evidente cuando las determinaciones se realizan en sistemas complejos como el plasma. Así, estudios recientes indican que el MDA no debe ser el único criterio que se estime como indicador de que la lesión tisular ha sido mediada por estrés oxidativo, esto se debe a que el MDA puede ser producido por otros procesos en los que no intervienen los radicales libres ^{192 193}.

V. Resultados.

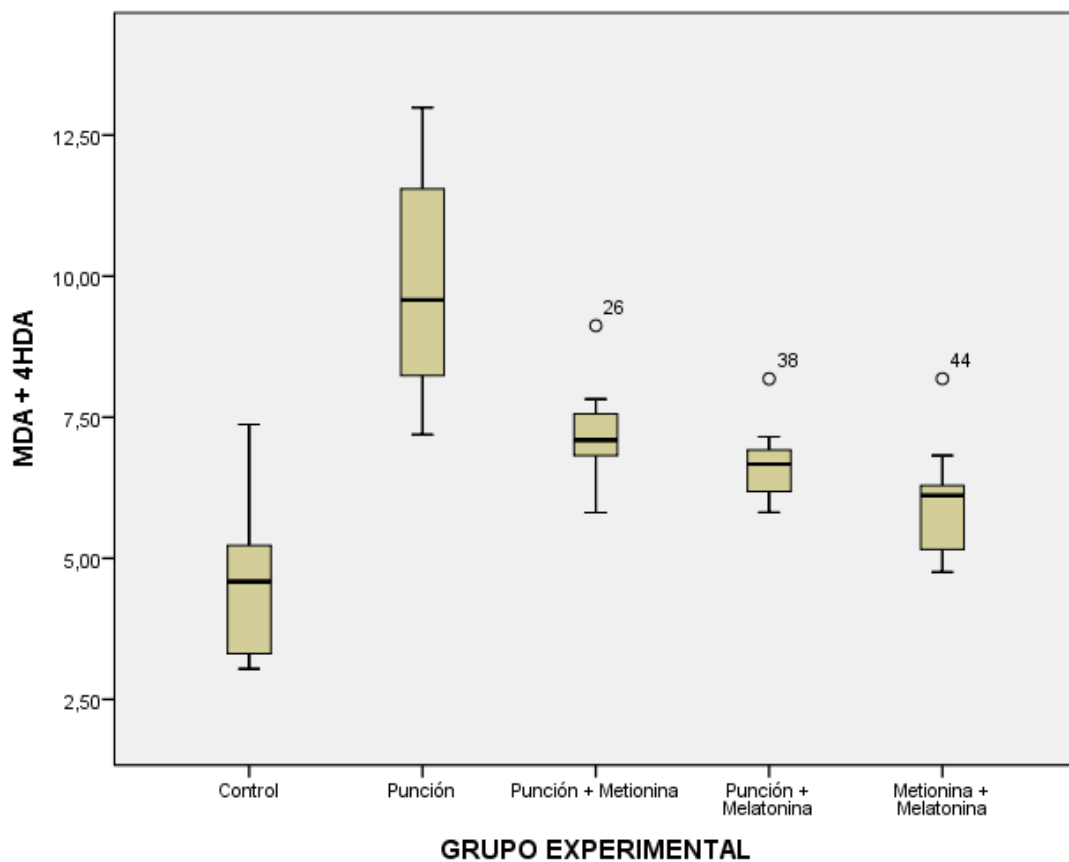
V. Resultados.

- Previamente al inicio de la fase experimental, se realizó la técnica quirúrgica que se había diseñado, en tres animales, para adquirir la habilidad quirúrgica necesaria. Tras la necropsia de los animales, se realiza reapertura de la laparotomía e inspección de la cavidad abdominal, y posteriormente se procedió a la realización de craneotomía y extracción del cerebro.
- Inmediatamente después de obtener cada muestra, esta se sumergió en nitrógeno líquido hasta su congelación, introduciéndose posteriormente en un tubo de ensayo cerrado, el cual se etiquetaba y se almacenaba en un congelador con una temperatura de -80°C .
- Tras la determinación de malondialdehído (MDA) y 4 hidroxialkenal (4-HDA) se llevaron los resultados a un análisis estadístico con las siguientes determinaciones o pruebas estadísticas:
- Inicialmente se realizaron las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnova y Shapiro-Wilk, comprobándose que las variables obtenidas seguían una distribución normal.
- Posteriormente se realizó la homogeneidad de la varianza, y demostró que las varianzas no son iguales.
- En el análisis de la varianza de un factor, mostró diferencias significativas entre las medias de los grupos de punción con el resto y control con el resto, siendo esta diferencia menor entre el grupo control y el grupo punción+metionina+melatonina.

MDA + 4HDA

	n	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	10	4,5773	1,31622	,41623	3,6357	5,5189	3,04	7,37
Punción	10	9,8547	1,91837	,60664	8,4824	11,2270	7,19	12,99
Punción + Metionina	10	7,1795	,92530	,29260	6,5176	7,8414	5,81	9,12
Punción + Melatonina	10	6,6639	,69468	,21968	6,1670	7,1608	5,82	8,18
Metionina + Melatonina	10	6,0002	1,02262	,32338	5,2687	6,7317	4,76	8,18
Total	50	6,8551	2,12257	,30018	6,2519	7,4583	3,04	12,99

- Dichas diferencias se intuyen mejor en la gráfica.



-

- Donde podemos observar que el grupo de punción sin administración de melatonina ni de metionina, tiene niveles de malondialdehído (MDA) y 4 hidroxialkenal (4-HDA), significativamente mayores que el resto. Además vemos, que en los grupos de Punción + Metionina, Punción + Melatonina, y Punción+Metionina+Melatonina, los valores de sus medias se acercan al grupo control (sin punción), estando el último grupo, Punción+Metionina+Melatonina, casi con valores similares.
- En las pruebas de homogeneidad de las varianzas intergrupos e intragrupos, nos dió un resultado significativo, con un nivel de significación menor a 0.001. De igual manera las pruebas robustas de igualdad de las medias de Welch y Brown-Forsythe nos aparece con nivel de significación menor a 0.001.
- En cuanto a las comparaciones múltiples resaltamos lo siguiente.
- Todos los grupos resultaron con diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con punción y el grupo de Control (sin punción). Las mayores diferencias se obtuvieron entre el grupo control y el grupo de punción (Sin melatonina ni metionina). Y las menores diferencias se observaron entre el grupo control y el grupo de melatonina+metionina, pudiendo comprobar que los intervalos se superponen.
- Se aprecian diferencias significativas entre el grupo de punción y los grupos de metionina, melatonina y metionina+melatonina, siendo mayores las diferencias por ese orden.

IV DISCUSIÓN

La sepsis y el shock séptico son dos grandes problemas de asistencia sanitaria que afectan a millones de personas en todo el mundo cada año. Al menos una de cada cuatro personas muere a causa de sepsis o shock séptico y la incidencia de ambos es cada vez más acuciante. La mortalidad del shock séptico depende del número de órganos disfuncionantes, siendo el cerebro un órgano diana que participa inicialmente en las alteraciones del shock séptico, hasta tal punto, que se utiliza en el qSOFA como índice para el diagnóstico del mismo. Uno de los mecanismos de lesión celular durante la sepsis es la lesión por radicales libres, ya que durante la misma se ha comprobado una disminución de las sustancias antioxidantes.

Hemos supuesto que un tratamiento con melatonina y/metionina, sustancias con mecanismos antioxidantes demostrados, mejoraría la defensa frente al estrés oxidativo y por lo tanto, mejoraría el tratamiento y la supervivencia de éstos pacientes.

4.1 MODELO EXPERIMENTAL.

Nuestro objetivo es estudiar la lesión por radicales libres en el cerebro durante la fase tardía de la sepsis y valorar si el tratamiento con melatonina y metionina mejora la producción de dichos radicales libres.

Cuando buscamos un modelo experimental para el estudio de la sepsis, este tiene que ser lo suficientemente controlado y reproducible para que nos permita obtener muestras de forma repetida, en la misma situación clínica y por tanto podamos obtener resultados con significación estadística.

El modelo experimental que hemos elegido: Ratas wistar macho a las que se les realiza ligadura y punción de ciego, nos permite estudiar la fase tardía de la sepsis con evolución a disfunción de órganos. Así mismo se encuentra bien descrita la evolución que siguen estos animales así como su correlación con el cuadro séptico en el humano. Este

modelo descrito por Wichterman y cols.¹⁷³, ha sido ampliamente empleado por diversos autores, para estudiar diversos aspectos relacionados con la sepsis¹⁹⁴. Existen otros modelos experimentales de producción de sepsis, pero presentan una serie de inconvenientes.

El modelo basado en la infusión intravenosa de endotoxinas tiene unas características clínicas y metabólicas diferentes de la sepsis en el hombre. Así en el shock endotóxico la descarga α -adrenérgica provoca un aumento de las resistencias vasculares sistémicas, mientras que en el shock séptico están disminuidas. También en la endotoxemia la neoglucogénesis hepática está inhibida, mientras que en la sepsis está aumentada y además no puede ser inhibida por la administración exógena de glucosa.

La infusión intravenosa de bacterias no sigue una evolución similar a la sepsis en el hombre. Cuando la infusión se realiza de forma aguda, se produce la muerte del animal en poco tiempo, por otro lado, la administración de forma intermitente sobrepasa rápidamente la capacidad de respuesta del animal y no produce el cuadro clínico completo. Cuando la infusión se realiza de forma prolongada y continua, el huésped no tiene posibilidad de aislar el foco séptico. Sin embargo este modelo puede ser útil para el estudio de la cinética de aclaramiento de bacterias desde la sangre.

La provocación de abscesos intramusculares mediante la implantación de material fecal es más útil para el estudio de la respuesta inflamatoria ya que no producen un cuadro de shock séptico y no suelen ser mortales, pero no desarrolla cuadros de sepsis en los roedores.

La implantación intraperitoneal de material fecal, tiene el inconveniente de que se trata de una situación no controlada, por lo que es difícilmente reproducible, además algunas especies son resistentes a su propia materia fecal. El cuadro de peritonitis,

inducido con esta técnica se reproduce bien, pero para que el modelo sea reproducible es necesario el recuento bacteriano del inóculo, lo que complica el modelo. La administración intraperitoneal de organismos vivos produce un cuadro de shock endotóxico y no séptico, sin embargo este modelo es muy útil para el estudio del aclaramiento bacteriano del peritoneo.

La ligadura del ciego, sin punción del mismo, da lugar a la formación de un absceso localizado y no desarrolla peritonitis, así pues se trata de un cuadro no mortal, incluso con un seguimiento de un mes.

4.2 EVOLUCIÓN CLÍNICA DE LOS ANIMALES

Durante el periodo de seguimiento se produjo la muerte de algunos animales, pero todos ellos lo fueron en el periodo previo a la punción cecal, por lo que fueron sustituidos por otros de las mismas características.

Tras la ligadura y punción cecal (LPC) se hizo un seguimiento de cada uno de los animales en las tres fases del estudio. Todos los animales se recuperaron totalmente de la anestesia, aproximadamente a los 15 minutos de la misma, comenzando a deambular, beber e iniciando acciones de acicalamiento.

A las 24 horas los animales presentaban piloerección, ojos vidriosos con exudado parpebral, y disminución del consumo de agua y comida. Algunos tenían algo de diarrea. Al cogerles para explorarles mostraban poca lucha.

A las 60 horas de la ligadura y punción cecal (LPC), los animales se acicalaban y se movían con normalidad. No había alteraciones en el consumo de agua y alimentos.

A las 72 horas, antes de proceder a la obtención de muestras, todos los animales presentaban un aspecto y comportamiento normal.

Se ha recomendado que cuando se estudia la defensa antioxidante durante la sepsis, el intervalo de estudio debe ser corto, ya que en periodos de tiempo mas prolongados, hay otros factores, además de la sepsis, que pueden contribuir al cambio del nivel de antioxidante, como puede ser la deshidratación y el ayuno. En nuestro protocolo, el intervalo de seguimiento fue de 72 horas, ya que es en la fase de la sepsis en la que se produce la disfunción progresiva de múltiples órganos, y no llega a ser una fase de shock grave.

Cuando realizamos la laparotomía para obtener las muestras tisulares, encontramos en casi todos ellos, signos propios de una peritonitis, sin heces en la cavidad abdominal. En estudios previos con procedimientos similares, otros autores indican la presencia de hemocultivos positivos con E. Coli, S. Bovis, P. Mirabilis, Enterococo y B. Fragilis. Estos resultados comienzan a ser positivos a partir de las diez horas de la ligadura del ciego, cuando las ratas parecen ligeramente enfermas. Este periodo inicial, que se prolonga durante las primeras 16 horas, tras la cirugía, representa el periodo de sepsis precoz, que equivale al estado hiperdinámico de la sepsis.

Después de las 16 horas se produce el periodo de sepsis tardía, que equivale a la fase hipodinámica de la sepsis. Durante éste periodo, el animal presenta acidosis metabólica con aumento del ácido láctico e hipoperfusión en diferentes órganos. Estos procesos son los que conducen a la disfunción de múltiples órganos y en algunos de ellos a la muerte.

Es en éste periodo en el que analizamos si la administración de melatonina y/o metionina disminuye los niveles de de MDA y 4HDA, como marcadores de lesiones oxidativas, en el cerebro de éstos animales.

Durante la sepsis, la utilización de compuestos que mejoran la protección frente al estrés oxidativo, se basa en la evidencia de la depleción que se produce de antioxidantes que se ha demostrado en animales de experimentación y en pacientes ingresados en la UCI.

4.3 DESCENSO DE ANTIOXIDANTE Y AUMENTO DE RADICALES LIBRES EN LA SEPSIS.

Durante las situaciones de estrés se activa la respuesta de fase aguda, lo que produce un descenso de la síntesis de antioxidantes. De éste modo se ha demostrado que el ascenso en la proteína C reactiva, se correlaciona con un descenso en la concentración plasmática de vitaminas (A, E, C, D y B₆), posiblemente por un aumento de su consumo durante estas situaciones. También disminuye el glutatión, así en animales de experimentación tras la administración de endotoxinas, se produce un descenso del glutatión hepático, aumentando la sensibilidad frente al estrés oxidativo ¹⁹⁵. En pacientes ingresados en cuidados intensivos por cuadros de sepsis con SDRA, la concentración de glutatión en el lavado broncoalveolar es 4-5 veces menor que en pacientes no sépticos ¹⁹⁶.

El glutatión es necesario además, para un correcto funcionamiento de los leucocitos y la reparación de heridas, procesos que son necesarios en los pacientes graves.

La malnutrición es un factor que contribuye de forma significativa al descenso de antioxidantes. Así en pacientes malnutridos, el glutatión disminuye en un 60% en los leucocitos y un 25% en el hígado.

Con éste déficit de glutatión se produce una modificación del patrón de los ácidos grasos con descenso de los ácidos linoleico y araquidónico y por ende las estructuras de las membranas celulares se hace más sensible al estrés oxidativo.

Actualmente el mejor método para aumentar los niveles tisulares de glutatión a un animal sano es mediante el aporte en la dieta de un contenido de proteínas adecuado. Sin embargo, cuando se utilizan dietas ricas en AA con grupos sulfhidrilo o glutatión se produce muy escaso aumento de Glutatión, ya que se inhibe la síntesis de la enzima que interviene en su síntesis (glutatión sintetasa).

En nuestro estudio utilizamos el SAME, con el objetivo de aumentar lo niveles de glutatión. Ésta coenzima transmetilante se comenzó a utilizar en 1952 por Cantoni, por su capacidad de donar grupos metilos, en la síntesis de neurotransmisores, fosfolípidos, y hormonas, pero entre sus funciones se encuentra la capacidad de sintetizar compuestos antioxidantes que contienen grupos sulfhidrilo.

Basándonos en las propiedades farmacológica del SAME, los efectos beneficiosos que pudieran tener durante la sepsis se basan en su capacidad de intervenir en reacciones de transulfuración, que terminan aportando cisteína para la síntesis de glutatión, mejorando la capacidad antioxidante de la célula y disminuyendo la peroxidación de lípidos, y a su importante papel como dador de grupos metilos, en reacciones de trnsmetilación, impidiendo el descenso de la fosfatidilcolina, manteniendo por tanto la integridad de la membrana celular.

El SAME exógeno se incorpora al ciclo de la metionina, participando en reacciones de transulfuración. Éstas se inician cuando el SAME libera un grupo metilo, formándose S-Adenosil-homocisteína que desempeña la función de coenzima en las reacciones de transulfuración. El SAME decarboxilado, puede ceder su grupo propílico y participar en la síntesis de poliaminas, esenciales para la síntesis de ácidos nucleicos, RNA y proteínas.

La S-Adenosil-homocisteína se hidroliza hasta homocisteína y posterior cisteína, para formar parte de los elementos que constituyen el glutatión. De éste modo se ha

demostrado que el SAmE aumenta las reservas intracelulares de glutatión, además de otros compuestos como la taurina.

VI.RESUMEN.

VI. RESUMEN.

Se trata de un estudio experimental simple ciego con la utilización de ratas Wistar macho de 250-300 gramos, empleando un grupo de intervención de 80 % animales que a su vez se subdividió en cuatro grupos; grupo de la punción (con las siglas GI), grupo de la melatonina (con las siglas GM), grupo de la metionina (con las siglas GD), y grupo de ambas, melatonina metionina, (con las siglas GDM) marcándolos con anillas con dichas siglas respectivamente, asignándole un número de orden, y un grupo control de otros 20% animales al que se les asignará alternativamente al grupo control (con las siglas **GC**)

A los grupos se les produjo sepsis mediante la ligadura y posterior punción del ciego según técnica de Wichterman y cols. A los grupos de intervención (GI) se les administró una dosis de melatonina de 10 mgr/kg intraperitoneal, y una dosis de metionina de 1 mg/kg oral durante 5 semanas previas, respectivamente, ya que el objetivo primordial del mismo es valorar si el aporte exógeno de melatonina y/o metionina, en ratas con sepsis experimental, produce una disminución de MDA y 4HDA

Transcurridas 72 horas desde la terminación del protocolo quirúrgico, se procedió a la reapertura de la laparotomía e inspección de la cavidad abdominal, y a la realización de craneotomía y extracción del cerebro.

Se extrajeron muestras para la realización de las determinaciones de *Malonildialdehído (MDA)* y *4 hidroxialkenal (4-HDA)* en cerebro.

Los resultados muestran que las concentraciones de *Malonildialdehído (MDA)* y *4 hidroxialkenal (4-HDA)* en cerebro aumentan de forma significativa en ratas a las que se les realizan una sepsis experimental mediante la ligadura y posterior punción del ciego según técnica de Wichterman y cols.

En aquellas ratas a las que se les administra metionina o melatonina se produce una disminución significativa de las concentraciones de *Malonildialdehido (MDA)* y *4 hidroxialkenal (4-HDA)* en cerebro con respecto a las ratas con sepsis experimental. Dicha disminución es menor en las ratas a las que se les administra ambas sustancias, siendo sus diferencias con respecto al grupo control (Sin sepsis) no significativa.

VII. LIMITACIONES DE NUESTRO ESTUDIO.

VII. LIMITACIONES DE NUESTRO ESTUDIO.

La reacción inflamatoria que se produce en la sepsis es muy compleja, con múltiples interacciones entre mediadores y células. Hemos intentado observar una sola faceta de la producción de radicales libres a nivel celular.

El número de animales utilizado ha sido escaso, aunque los resultados obtenidos se mostraran significativos

En los pacientes con sepsis grave y shock séptico, a pesar de un tratamiento correcto, con frecuencia persiste el estado inflamatorio sistémico. De éste problema nacen multitud de estudios de investigación encaminados a frenar los mecanismos de lesión celular y a estudiar los mediadores de la sepsis.

Hay cada vez una mayor evidencia científica de que los radicales libres tienen un importante papel en la producción y el mantenimiento del estado inflamatorio celular.

Se necesitan estudios experimentales más amplios que definan el papel de éstos mediadores de lesión oxidativa.

CONCLUSIONES

VIII. Conclusiones

1- La mortalidad del shock séptico depende del número de órganos disfuncionantes, pero se asocia de forma significativa a la afectación cerebral. Uno de los mecanismos de lesión celular por la sepsis es la lesión por radicales libres. Durante la sepsis se produce una depleción de antioxidantes, por lo que intentamos buscar un tratamiento que mejore la defensa frente al estrés oxidativo, y por ende la supervivencia a la sepsis grave.

2- El modelo experimental que elegimos (ratas wistar a la que se realiza a ligadura y posterior punción del ciego según técnica de Wichterman) nos permite estudiar la fase tardía de la sepsis, que evoluciona a disfunción multiorgánica.

3- Los radicales libres de oxígeno son compuestos de vida media muy corta, por los que son difíciles de medir directamente. Por lo que se realiza una valoración indirecta mediante la presencia de productos derivados de la interacción de estos con los constituyentes celulares. Así la reacción con los lípidos de la membrana celular genera lípidos peroxidados que sí se pueden medir directamente. La determinación de los dienos conjugados junto con la del MDA son las más difundidas para el estudio de la lesión oxidativa (*Malonildialdehido (MDA) y 4 hidroxialkenal (4-HDA) en cerebro*)

4- En nuestro estudio observamos que la administración de metionina y/o melatonina en ratas con sepsis experimental, disminuye la concentración intracerebral de *Malonildialdehido (MDA) y 4 hidroxialkenal (4-HDA)* y por lo tanto se disminuye la concentración de radicales libres.

5- La administración de ambas sustancias juntas mejora claramente dicha disminución en la producción de radicales libres.

6- Se necesitan nuevos estudios experimentales que nos indiquen si la metionina y la melatonina disminuyen los procesos oxidativos en la sepsis en humanos y por lo tanto si aumenta la supervivencia en el shock séptico.

Anexo I

Tabla I. Esquema "PIRO"	pag 16
Tabla II.Score SOFA	pag 25
Tabla III.Cifras estimadas de incidencia poblacional de la sepsis grave	pag 50
Tabla IV. Mortalidad de la sepsis grave	pag 52
Tabla V. Citoquinas en la sepsis	pag 77
Tabla VI.Marcadores de sepsis	pag 98
Tabla VII.Características de las aminas vasoactivas	pag 116
Tabla VIII.Dosificación de aminas vasoactivas en el shock séptico	pag 117
Cuadro 1.SRIS	pag 18
Cuadro 2.Criterios qSOFA	pag 27
Cuadro 3.....Recomendaciones para la Clasificación Internacional de Enfermedades	pag 31

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Dellinger R.P, Levy MM, Rhodes A. Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric subgroup. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med.* 2013 Feb 41(2) 580-637
- 2) Marshall J.C., "Sepsis: Rethinking the approach to clinical research", *J Leukocyte Biol* 2013, 94 (1): 471-482. doi [10.1189/jlb.0607380](https://doi.org/10.1189/jlb.0607380). PMID 18171697.
- 3) Luderitz O., Galanos C., Lehmann V., Nurminen M., Rietschel E.T., Rosenfelder G., Simon M. *et al.*, "Lipid A: Chemical structure and biologic activity", *J of Infect Dis* 1973, 128: 29. doi [10.1093/infdis/128.Supplement_1.S17](https://doi.org/10.1093/infdis/128.Supplement_1.S17). JSTOR 30106029. Consultado el 20 de enero de 2016.
- 4) Funk D.J., Parrillo J.E. y Kumar A., "Sepsis and septic shock: a history", *Crit Care Clin* 2009, 25 (1): 83-1012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccc.2008.12.003>.
- 5) Cerra F.B., "The systemic septic response: multiple systems organ failure", *Crit Care Clin* 1985, 1(3): 591-607.
- 5) Singer M, Deutschman CS, Seymour C, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315(8):801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287.
- 6) The third edition of "Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012" appeared in the February 2013 issues of *Critical Care Medicine* and *Intensive Care Medicine*. 1. *ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al.* Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 2012; 307 (23): 2526-33. 1.
- 7) Angus DC, van der Poll T: Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 2063.
- 8) Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *JAMA* 2014; 311 (13): 1308-16.

- 9) I. Azkárate, G.Choperena, E.Salas . "Epidemiología y factores pronósticos de la sepsis grave/shock séptico" *Med Intensiva*. 2016; 40(1):18---25
- 10) Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, et al. "Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med*. 2004;30:536-55.
- 11) Espinoza F, , Aliaga F, Crawford P "Escenario actual y perspectivas de la terapia con células madre mesenquimales en medicina intensiva" *Rev Med Chile* 2016;144:222-231
- 12) C. Ortiz, J. Garnacho "Conocimientos actuales en la fisiopatología de la sepsis ". *Med Intensiva*. 2005;29(3):135-41
- 13) Niederman MS, Fein AM. Sepsis syndrome, the adult respiratory distress syndrome, and nosocomial pneumonia: a common clinical sequence. *Clin Chest Med* 1990; 11: 633-656.
- 14) Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A, et al. Incidence, risk factors and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. *JAMA* 1995; 274: 969-974.
- 15) Ikka L, Parviainen I, Takala J. Do we really know the epidemiology and clinical course of sepsis. *Yearbook of Intensive and Emergency Medicine*. Berlin: Springer, 1998; 229-23
- 16) . Dombrovskiy, Gaieski DF, Edwards JM, Kallan MJ, Carr BG. "Benchmarking the incidence and mortality of severe sepsis in the United States". *Crit Care Med*. 2013 May;41(5):1167-74
- 17) Sands KE, Bates DW, Lanken PN, Graman PS, Hibberd PL. "Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers". Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *JAMA*. 1997;278:234-40
- 18) Bernato AE, Alexander SL, LInde ZWT, Angus DC. Racial variation in the incidence care and outcomes of severe sepsis. Analysis of population patient and *hospital characteristics*. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008; 177:279-84
- 19) Degoricija V, Sharma M, Legac A, Gradier M, Sefer S. Survival analysis of 314 episodes of sepsis in medical intensive care unit university hospital: impact

- of intensive care unit performance and antimicrobial therapy. *Croat Med J* .2006;47:385–97
- 20) Cisneros-Herreros JM et al. Guía para el diagnóstico y tratamiento del paciente con bacteriemia *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007;25(2):111-30
- 21) Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet*.2005;365(9453):63-78
- 22) M. P. Rodrigo Casanova, J. M. García Peña. "Sepsis grave y shock séptico" (*Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.* 2007; 54: 484-498
- 23) Wheeler AP, Bernard GR. "Treating patients with severe sepsis". *N Engl J Med* 1999; 340: 207-214.
- 24) Angus DC, van der Poll T: Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 2063
- 25) Hotchkiss R. Karl I. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *TheNew England Journal of Medicine*. 2003. 348(2). 138-150.
- 26) Francisco Bracho .Sepsis severa y shock séptico.*Rev. Medicrit Jul 2004 1(03)*
- 27) Espinoza F, , Aliaga F, Crawford P "Escenario actual y perspectivas de la terapia con células madre mesenquimales en medicina intensiva" *Rev Med Chile*2016;144:222-231
- 28) Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet*.2005;365(9453):63-78
- 29) Torradabella P, Esquirol X. Actualidad del shock séptico. *JANO. Enero del 2.000*.
- 30) Beck-Sague CM, Jarvis WR, the National Nosocomial Infections Surveillance System: Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-1251.
- 31) Nalos M, Huang SJ, Pandit R and McLean AS. Endotoxin stimulated interleukin-10 production is enhanced by adenosine. Possible key to septic shock associated with immune deficiency? *Anaesth IntensiveCare*. 2006; 34:719-72
- 32) Bone RC. "Inmunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS)". *Ann Intern Med* 1996; 125: 60-87.
- 33) Astiz ME, Rackow EC. Septic shock. *Lancet* 1998; 351: 1.501-1.505.

- 34) Torrabadella P. Bacteriemia y shock séptico. *En: Farreras/Rozman. Medicina Interna (13ª ed.)*. Rozman C, editor. Barcelona: Doyma, 1995.
- 35) Torrabadella de Reynoso P, Salgado Remigio A. Óxido nítrico y sus inhibidores en la sepsis y el shock séptico. *Med Intensiva 1993; 17: 477-484*.
- 36) Kitchens CS. Disseminated intravascular coagulation. *Curent Op Haematology 1995; 2: 402-406*.
- 37) Torrabadella de Reinoso P. Tratamiento de la coagulación intravascular diseminada. Nuevos aspectos terapéuticos. *En: Rutllán ML, Artigas A, (editores). Trastornos de la coagulación. Barcelona: MCR, 1991; 101-114*.
- 38) Nalos M, Huang SJ, Pandit R and McLean AS. Endotoxin stimulated interleukin-10 production is enhanced by adenosine. Possible key to septic shock associated with immune deficiency? *Anaesth IntensiveCare. 2006; 34:719-72*
- 39) Fretland DJ, Anglin C, Widomski D, Connor J, Wyatt P, Manning P and Currie M. Temporal relationships of cytokine production in mouse nonlethal sepsis: Effect of nitric oxide synthase inhibitors. *Inflamm. Res. 1997; 46: S155-S156*.
- 40) Remick DG, Garg SJ and Newcomb DE. Exogenous interleukin-10 fails to decrease the mortality or morbidity of sepsis. *Crit Care Med. 1998; 26: 895-904*.
- 41) Ricardo González Álvarez: Citocinas anti-inflamatorias y sus acciones y efectos en la sepsis y el choque séptico. REDVET. *Revista electrónica de Veterinaria. ISSN: 1695-7504 10, Nº 8*
- 42) Spika JS, Peterson PK, Wilkinson BJ, Hammerschmidt DE, Verbrugh HA, et al. Role of peptidoglycan from *Staphylococcus aureus* in leukopenia, thrombocytopenia, and complement activation associated with bacteriemia. *J Infect Dis 1982; 146: 227-234*.
- 43) Hack CE, Nuijens JH, Felt-Bersma RJF, Schreuder WO, Eerenberg-Belmer AJ, et al. Elevated plasma levels of the anaphylatoxins C_{3a} and C_{5a} are associated with fatal outcome in sepsis. *Am J Med 1989; 86: 20-26*.

- 44) Kalter ES, van Dijk WC, Timmerman A, Verhoef J, Bouma BN. Activation of purified human plasma prekallikrein triggered by cell wall fractions of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 1983; 148: 682-691.
- 45) Warr TA, Mohan Rao LV, Rapaport SI. Disseminated intravascular coagulation in rabbits induced by administration of endotoxin or tissue factor: effect of anti-tissue factor antibodies and measurement of plasma extrinsic pathway inhibitor activity. *Blood* 1990; 75: 1481-1489.
- 46) Pugin J, Heumann D, Tomasz A, Kravchenko UU, Akamatsu Y, et al. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* 1994; 1: 509-516.
- 47) Majcherczyk PA, Knaup M, Pugin J, Glauser MP, Moreillon P, Heumann D. CD14 dependant and independent activation of monocytes stimulated by gram-positive bacterial cell wall fragments [Abstract]. 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. New Orleans, 1996: G51.
- 48) Schumann RR, Leong SR, Flagg GW, Gray PW, Wright SD, et al. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 1990; 249: 1429-1431.
- 49) Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; 249: 1431-1433.
- 50) Pugin J, Schürer-Maly CC, Leturcq D, Mariarty A, Ulevitch RJ, et al. Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2744-2748.
- 51) Tracey KJ, Lowry SF. The role of cytokine mediators in septic shock. *Adv Surg* 1990;23: 21-26.
- 52) Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-1652.
- 53) Waage A, Espevik T. Interleukin-1 potentiates the lethal effect of tumor necrosis factor- α /cachectin in mice. *J Exp Med* 1988; 167: 1987-1992.
- 54) Calandra T, Baumgartner JD, Grau GE, Wu MM, Lambert PH, et al. Prognosis values of tumor necrosis factor/cachectin, interleukin-1, interferon- α and interferon- γ in the serum of patients with septic shock. *J Infect Dis* 1990; 161: 982-987.

- 55) Calandra T, Gerain J, Heumann D, Baumgartner JD, Glauser MP, The Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group. High circulating levels of interleukin-6 in patients with septic shock: evolution during sepsis, prognostic value, and interplay with other cytokines. *Am J Med* 1991; 91: 23-29.
- 56) Welbourn CRB, Young Y. Endotoxin, septic shock and acute lung injury: neutrophils, macrophages, and inflammatory mediators. *Br J Surg* 1992; 79: 998-1003
- 57) Dinarello CA. The pro-inflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. *J Infect Dis* 1991; 163: 1177-1184.
- 58) Cotran RS, Pober JS. Effects of cytokines on vascular endothelium: their role in vascular and immune injury. *Kidney Int* 1989; 35: 969-975.
- 59) Cazzola R, Rondanelli M, Faliva M, Cestaro B. Effects of DHA-phospholipids, melatonin and tryptophan supplementation on erythrocyte membrane physico-chemical properties in elderly patients suffering from mild cognitive impairment. *Exp Gerontol* 2012;47(12):974-8.
- 60) Chang SW, Feddersen CO, Henson PM, Voelkel NF. Platelet activating factor mediates hemodynamic changes and lung injury in endotoxin-treated rats. *J Clin Invest* 1990; 171: 439-448.
- 61) Reines HD, Halushka PV, Cook JA, Wise WC, Rambo W. Plasma thromboxane concentrations are raised in patients dying with septic shock. *Lancet* 1982; 2: 174-175.
- 62) Bersten A, Hersch M, Cheung H, Rutledge F, Sibbald W. The effect of various sympathomimetics on the regional circulations in hyperdynamic sepsis. *Surg* 1992; 112: 549-61.
- 63) Lam C, Tymk K, Martin C, Sibbald W. Microvascular perfusion is impaired in a rat model of normotensive sepsis. *J Clin Invest* 1994; 94: 2077-83.
- 64) Astiz M, De Gent G, Lin R, Rackow E. Microvascular function and rheologic changes in hyperdynamic sepsis. *Crit Care Med* 1995; 23: 265-71.
- 65) Yodice P, Astiz M, Kurian B, Lin R, Rackow E. Neutrophil rheologic changes in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 38-423.

- 66) Silverman H, Penaranda R, Orens J, Lee N. Impaired α -adrenergic receptor stimulation of cyclic adenosine monophosphate in human septic shock: association with hyporesponsiveness to catecholamines. *Crit Care Med* 1993; 21: 31-39.
- 67) Nelson D, Samsel R, Wood L, et al. Pathological supply dependence of systemic and intestinal O₂ uptake during endotoxemia. *J Appl Physiol* 1988; 64: 2410-19.
- 68) Dahn M, Lange P, Kubdell K, et al. Splachnic and total body oxygen consumption differences in septic and injured patients. *Surg* 1987; 101: 69-80.
- 69) Freidman G, Berlot G, Kahn R, Vincent J. Combined measurements of blood lactate concentrations and gastric intramucosal pH in patients with severe sepsis. *Crit Care Med* 1995; 23: 1184-93.
- 70) Astiz ME, Rackow E, Schumer W, Weil M. Early impairment of oxidative metabolism and energy production in severe sepsis. *Circ Shock* 1988; 26: 311-20.
- 71) Hayes M, Timmins A, Yau E, Palazzo M, Watson D, Hinds C. Oxygen transport patterns in patients with sepsis syndrome or septic shock: influence of treatment and relationship to outcome. *Crit Care Med* 1997; 25: 926-36
- 72) Parker M, Fink M. Septic shock. En JM. ed. *Intensive Care Medicine*. Boston: Little Brown and Company. 1991: 1444-1454.
- 73) Hrris RL, Musher DM, Bloom K, Gathe J, Rice L, Sugarman B, et al. Manifestation of sepsis. *Arch Intern Med* 1987; 147: 1985-1906.
- 74) Bowton DL. CNS effects of sepsis. *Critical Care Clinics* 1989; 5: 785-792.
- 75) Bleck TP, Smith M, Pierre-Louis SJ, Jares JJ, Murray J, Hansen C. Neurological complications of critical medical illnesses. *Crit Care Med* 1993; 21: 98-103.
- 76) Sprung CL, Peduzzi PN, Shatney CH, Schein RMH, Wilson MF, Sheagren JN, et al. Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 1990; 18: 801-806.
- 77) Georgieff M, Schricker T, Kluger B. Metabolic changes in sepsis. En: Reinhart K, Eyrich K, Sprung C. eds *Sepsis. Current perspectives in pathophysiology and therapy*. Berlin: Springer-Verlag, 1994: 292-304.

- 78) Sprung CL, Cerra FB, Freund HR, Schein RM, Konstantinides FN, Marcial E, et al. Amino acid alterations and encephalopathy in the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 1991; 19: 753-757.
- 79) Freund HR, Ryan JA, Fischer JE. Amino acid derangements in patients with sepsis: Treatment with branched chain amino acid rich infusions. *Ann Surg* 1978; 188: 423-438.
- 80) Nachbauer CA, Edwards LL, James H, Ghory MJ, Fischer JE. Plasma and brain amino acids in surgical stress and sepsis: Effects of branched-chain amino acid infusion. *Surg Forum* 1984; 35: 130-132.
- 81) Takezawa J, Taenaka N, Nishijima MK, Hirata T, Okada T, Yasuhiro Y, et al. Amino acids and thiobarbituric acid reactive substances in cerebrospinal fluid and plasma of patients with septic encephalopathy. *Crit Care Med* 1983; 11: 876-879.
- 82) Freund HR, Atamian S, Holroyde J, Fischer JE. Plasma amino acids as predictors of the severity and outcome of sepsis. *An Surg* 1979; 190: 571-576.
- 83) Hasselgren O, Fischer JE. Septic encephalopathy. Etiology and management. *Intensive Care Med* 1986; 12: 13-16.
- 84) Bowton DL, Bertels NH, Prough DS, Stump DA. Cerebral blood flow is reduced in patients with sepsis syndrome. *Crit Care Med* 1989; 17: 399-403.
- 85) Hariri RJ, Ghajar JBG, Bahramian K, Sharif S, Barie PS. Alterations in intracranial pressure and cerebral blood volume in endotoxemia. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 176: 155-166.
- 86) Pendlebury WW, Perl DP, Muñoz DG. Multiple microabscesses in central nervous system: a clinic-pathologic study. *Clin Neuropath Exp Neurol* 1989; 48: 290-300.
- 87) Bolton CF, Bryan G, Zochodne DW. Neurological changes during severe sepsis. *Current Topics in Intensive Care* 1995; 1: 180-215.
- 88) Gann DS, Cross JS. The neuroendocrine response to critical illness. En: Barie PS, Hires GT, eds. *Surgical Intensive Care*. Boston: Little Brown, 1993: 93-134.
- 89) Shapiro L, Gelfand JA. Cytokines and sepsis: pathophysiology and therapy. *New Horizons* 1993; 1: 13-22.
- 90) Barie PS, Hariri J, Ghajar BG. Septic encephalopathy. *J Intens Care Med* 1994; 9: 165.

- 91) Sharif S, Hariri RJ, Ghang VA, Barie PS, Wang RS, Ghajar JBG. Human astrocyte production of tumor necrosis factor- α interleukin-1 β and interleukin-6 following exposure to lipopolysaccharide endotoxin. *Neurol Res* 1993; 15: 109-112.
- 92) Bakker J, Coffernils M, Leon M, et al. Blood lactate levels are superior to oxygen derived variables in predicting outcome in septic shock. *Chest* 1991; 99: 956-62.
- 93) Tuschmidt J, Freid J, Astiz M, Rackow E. Elevation of cardiac output and oxygen delivery improves outcome in septic shock. *Chest* 1992; 102: 216-20.
- 94) Packman M, Raclow EC. Optimum left heart filling pressures during fluid resuscitation of patients with hypovolemic and septic shock. *Crit Care Med* 1983; 11: 165-69.
- 95) Rackow EC, Falk JL, Fein IA, et al. Fluid resuscitation in shock: a comparison of the cardiorespiratory effects of albumin, hetastarch and saline solutions in patients with hypovolemic shock. *Crit Care Med* 1983; 11: 839-50.
- 96) Silverman H, Tuma P. Gastric tonometry in patients with sepsis: effects of dobutamine infusions and packed red blood cells transfusions. *Chest* 1992; 102: 184-88.
- 97) Rudis M, Basha M, Zarowitz B. Is it time to reposition vasopressors and inotropes in sepsis? *Crit Care Med* 1996; 24: 525-37.
- 98) Neviere R, Matheieu D, Changnon JC, Lebleu N, Wattel F. The contrasting effects of dobutamine and dopamine on gastric mucosal perfusion in septic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1684-88.
- 99) Levy B, Bollaert PE, Lucchelli JP, et al. Dobutamine improves the adequacy of gastric mucosal perfusion in epinephrine-treated septic shock. *Crit Care Med* 1997; 25: 1649-54.
- 100) Kreger B, Craven D, McCabe W. Gram-negative bacteremia IV: re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients. *Am J Med* 1980; 68: 334-55.
- 101) Lynn W, Cohen J. Adjunctive therapy for septic shock: a review of experimental approaches. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 143-58.
- 102) Zeni F, Freeman B, Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med* 1997; 25: 1095-100.

- 103) Bone RC. Why sepsis trials fail. *JAMA* 1996; 276: 565-66.
- 104) Moncada S, Higgs EA. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest* 1991; 21:361-364.
- 105) Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142.
- 106) Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide as a signal in blood vessels. *TIBS* 1992; 339-402.
- 107) Petros A, Bennet D, Vallance P. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet* 1991; 338: 1.557-1.558.
- 108) Nava E, Palmer RMJ, Moncada S. Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial. *Lancet* 1991; 338: 1.555-1.558.
- 109) Petros A, Bennett D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet* 1991; 338: 1.557-1558.
- 110) Kilbourn RG, Gross SS, Jubran A, Adams J, Gririth OW, Levi R, et al. NG-Methyl-L-arginine inhibits tumor necrosis factor-induced hypotension: Implications for the involvement of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87: 3.629-3.632.
- 111) Wright CE, Rees DD, Moncada S. Protective a pathological roles of nitric oxide in endotoxin shock. *Cardiovas Res* 1992; 26: 48-57.
- 112) Crespo E, Macías M, Pozo D, Escames G, Martín M, Vives F, Guerrero JM, and Acuña-Castroviejo D. Melatonin inhibits expression of the inducible NO synthase II in liver and lung and prevents endotoxemia in lipopolysaccharide-induced multiple organ dysfunction syndrome in rats. *FASEB J*, September 1999; 13: 1.537-1.546.
- 113) Chabrier PE, Auguet M, Spinnewyn B, Auvin S, Cornet S, Demerlé-Pallardy C, Guilmard-Favre C, Marin JG, Pignol B, Guillard-Roubert V, Roussillot-Charnet C, Schulz J, Viossat I, Bigg D and Moncada S. BN 80933, a dual inhibitor of neuronal nitric oxide synthase and lipid peroxidation: A promising neuroprotective strategy. *Proc Natl Acad Sci USA*, September 1999; 96: 10.824-10.829.

- 114) Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and redox-activated forms. *Science* 1992; 258: 1.898-1.902.
- 115) Brune B, Ullrich V. Inhibition of platelet aggregation by carbon monoxide is mediated by activation of guanylate cyclase. *Mol Pharmacol* 1987; 32: 497-504.
- 116) Tare M, Parkinton HC, Coleman HA, Neild TO, Dusting GJ. Hiperpolarization and relaxation of arterial smooth muscle caused by nitric oxide derived from the endothelium. *Nature* 1990; 346:69-71.
- 117) Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 1993; 328: 1.471-1.477.
- 118) Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ. Multiple cytokines are required to induce hepatocyte nitric oxide production and inhibit protein synthesis. *Ann Surg* 1990; 212: 568-575
- 119) Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; 2:1.057-1.058.
- 120) Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. An L-arginine: nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5.193-5.197.
- 121) Palmer RMJ. The discovery of nitric oxide in the vessel wall. *Arch Surg* 1993; 128: 396-401.
- 122) Liew FY, Millot SA, Parkinson C, Palmer RMJ, Moncada S. Macrophage killing of leishmania parasite in vivo is mediated by nitric oxide from L-arginine. *J Immunol* 1990; 144: 4.794-4.797.
- 123) McCall TB, Boughton-Smith NK, Palmer RMJ, Whittle BJR, and Moncada S. Synthesis of nitric oxide from L-arginine by neutrophils: release and interaction with superoxide anion. *Biochem J* 1989; 261: 293-296.
- 124) Palmer RMJ, Bridge L, Foxwell NA, Moncada S. The role of nitric oxide in endothelial cells damage and its inhibition by glucocorticoids. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 11-12.
- 125) Shultz R, Nava E, Moncada S. Induction and potential biological relevance of a Ca^{2+} independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 575-580.

- 126) Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992; 257: 387-389.
- 127) Garwaithe J, Charles SL, Chess-Williams R. Endothelium-derived-relaxing-factor release on activation of NMDA receptors suggests a role as intracellular messenger in the brain. *Nature* 1988; 336: 385-388.
- 128) Barnes PJ. Nitric oxide and airways. *Eur Respir J* 1993; 6: 163-165.
- 129) Freeman BA, Crapo JD. Free radicals and tissues injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
- 130) Pryor WA. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions. *Ann Rev Physiol* 1986; 48: 657-667.
- 131) Souich P., Proulx M. Radicales libres y lesiones multisistémicas del shock. En *Shock y fallo multiorgánico*. Net A., Mancebo J. y Benito S. Eds. Springer-Verlag Ibérica S.A. Barcelona 1994.
- 132) Oates JA, Fitzgerald GA, Branch RA, Jackson EK, Knapp HR, Roberts JL. Clinical implications of prostaglandin and thromboxane A₂ formation. *N Engl J Med*. 1988; 319: 689-698, 671-767.
- 133) Repine JE, Cheronis JC, Rodell TC, Linas SL, Patt A. Pulmonary oxygen toxicity and ischemia-reperfusion injury. A mechanism in common involving xanthine oxidase and neutrophils. *Am Rev Respir Dis*. 1987; 136: 483-485.
- 134) Babior BM. Oxidants from phagocytes: agents of defence and destruction. *Blood*. 1984; 64: 959-966.
- 135) Davies KJA. Protein damage and degradation by oxygen radical. General aspect. *J Biol Chem*. 1987; 262: 9895-9901.
- 136) Gardner HW. Oxygen radical chemistry of polyunsaturated fatty acids. *Free Radic Biol Med*. 1989; 7: 65-86.
- 137) Lepage C, Muñoz C, Champagne J, Roy CC. Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem*. 1991; 197: 277-283.

- 138) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* 1991; 11: 81-128.
- 139) Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci* 1994; 55: 271-276.
- 140) Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang GG, Ortiz G, and Acuña-Castroviejo D. A review of the evidence supporting melatonin as antioxidant. *J Pineal Res* 1995; 18: 1-11.
- 141) Acuña-Castroviejo D, Escames G, Macías M, Muñoz Hoyos A, Molina Carballo A, Arauzo M, Montes R and Vives F. Cell protective role of melatonin in the brain. *J Pineal Res* 1995; 19: 57-63.
- 142) Reiter RJ, Guerrero JM, Escames G, Pappolla MA and Acuña-Castroviejo D. Prophylactic actions of melatonin en oxidative neurotoxicity. *Ann N.Y. Acad Sci*
- 143) Menéndez-Peláez A, Reiter RJ. Distribution of melatonin in mammalian tissues: The relative importance of cytosolic versus nuclear localization. *J Pineal Res* 1993; 15: 9-165.
- 144) Bettahi I, Pozo S, Osuna C, Reiter RJ, Acuña-Castroviejo S, Guerrero JM. Melatonin reduces nitric oxide synthase activity in rat hypothalamus. *J Pineal Res* 1996; 20: 205-210.
- 145) Pozo D, Reiter RMJ, Calvo JR, Guerrero JM. Inhibition of cerebellar nitric oxide synthase and cyclic GMP production by melatonin via complex formation with calmodulin. *J Cell Biochem* 1997; 65: 430-442.
- 146) León J, Vives F, Crespo E, Camacho E, Espinosa A, Gallo MA, Escames G, Acuña-Castroviejo D. Modification of nitric oxide synthase activity and neural response in rat striatum by melatonin and kynurenine derivates. *J Neuroendocrinol* 1998; 10: 297-302.
- 147) Petrie K, Dawson AG, Thompson L, Brook R. A double blind trial of melatonin as a treatment for jet-lag in international cabin crew. *Biol Psychiatry* 1993;33:526-30.
- 148) Petrie K, Dawson AG, Thompson L, Brook R. A double blind trial of melatonin as a treatment for jet-lag in international cabin crew. *Biol Psychiatry* 1993;33:526-30.

- 149) Nunes DM, Mota RM, Machado MO, Pereira EDB, De Bruin VMS, De Bruin PFC. Effect of melatonin administration on subjective sleep quality in chronic obstructive pulmonary disease. *Braz J Med Biol Res* 2008;41:926–31.
- 150) Russcher M, Koch BC, Nagtegaal JE, Van Ittersum FJ, Pasker-de Jong PC, Hagen EC, et al. Long-term effects of melatonin on quality of life and sleep in haemodialysis patients (Melody study): a randomized controlled trial. *Br J Clin Pharmacol* 2013;76(5):668-79.
- 151) Adamczyk-Sowa M, Pierzchala K, Sowa P, Polaniak R, Kukla M, Hartel M. Influence of melatonin supplementation on serum antioxidative properties and impact of the quality of life in multiple sclerosis patients. *J Physiol Pharmacol* 2014;65(4):543-50.
- 152) Garzón C, Guerrero JM, Aramburu O, Guzmán T. Effect of melatonin administration on sleep, behavioral disorders and hypnotic drug discontinuation in the elderly: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Aging Clin Exp Res* 2009;21:38–42.
- 153) Rondanelli M, Opizzi A, Monteferrario F, Antonello N, Manni R, Klersy C. The effect of melatonin, magnesium, and zinc on primary insomnia in long-term care facility residents in Italy: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Am Geriatr Soc* 2011;59(1):82-90.
- 154) Cazzola R, Rondanelli M, Faliva M, Cestaro B. Effects of DHA-phospholipids, melatonin and tryptophan supplementation on erythrocyte membrane physico-chemical properties in elderly patients suffering from mild cognitive impairment. *Exp Gerontol* 2012;47(12):974-8.
- 155) Rondanelli M, Opizzi A, Faliva M, Mozzoni M, Antonello N, Cazzola R, et al. Effects of a diet integration with an oily emulsion of DHA-phospholipids containing melatonin and tryptophan in elderly patients suffering from mild cognitive impairment. *Nutr Neurosci* 2012;15(2):46-54.
- 156) Kedziora-Kornatowska K, Szewczyk-Golec K, Czuczejko J, Pawluk H, Van Marke de Lumen K, Kozakiewicz M, et al. Antioxidative effects of melatonin administration in elderly primary essential hypertension patients. *J Pineal Res* 2008;45:312–7.
- 157) Kedziora-Kornatowska K, Szewczyk-Golec K, Kozakiewicz M, Pawluk H, Czuczejko J, Kornatowski T, Bartosz G, Kedziora J. Melatonin improves oxidative stress parameters measured in the blood of elderly type 2 diabetic patients. *J Pineal Res* 2009;46(3):333-7.

- 158) Pereira Rde S. Regression of gastroesophageal reflux disease symptoms using dietary supplementation with melatonin, vitamins and aminoacids: comparison with omeprazole. *J Pineal Res* 2006;41(3):195-200.
- 159) Rondanelli M, Opizzi A, Monteferrario F, Antonello N, Manni R, Klersy C. The effect of melatonin, magnesium, and zinc on primary insomnia in long-term care facility residents in Italy: a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Am Geriatr Soc* 2011;59(1):82-90.
- 160) Kedziora-Kornatowska K, Szewczyk-Golec K, Czuczejko J, Pawluk H, Van Marke de Lumen K, Kozakiewicz M, et al. Antioxidative effects of melatonin administration in elderly primary essential hypertension patients. *J Pineal Res* 2008;45:312–7.
- 161) McCarty RL, Weber WJ, Loots B, Breuner CC, Vander Stoep A, Manhart L, Pihoker C. Complementary and alternative medicine use and quality of life in pediatric diabetes. *J Altern Complement Med* 2010;16(2):165-73.
- 162) Reilly PM, Burkey GB Lesión histica producida por radicales libres y otros metabolitos tóxicos de oxígeno. *Br j Surg (Ed Esp)* 1991;5:183-184
- 163) Ochoa JJ, Díaz-Castro J, Kajarabille N, García C, Guisado IM, De Teresa C, Guisado R. Melatonin supplementation ameliorates oxidative stress and inflammatory signaling induced by strenuous exercise in adult human males. *J Pineal Res* 2011;51(4):373-80.
- 164) Mero AA, Vähälummukka M, Hulmi JJ, Kallio P, Von Wright A. Effects of resistance exercise session after oral ingestion of melatonin on physiological and performance responses of adult men. *Eur J Appl Physiol* 2006;96(6):729-39.
- 165) Hasselgren PO, Talamini M, James JH, Fisher JE. Protein metabolism in different types of skeletal muscle during early and late sepsis in rats. *Arch Surg* 1986; 121: 918-923.
- 166) Pedersen PV, Warner BW, Bjornson HS, et al. Hemodynamic and metabolic alterations during experimental sepsis in young adult rats. *Surg Gynecol Obstet* 1989; 168: 148-156.
- 167) Zamir O, Hasselgren PO, Frederick JA, Fisher JE. Is the metabolic response to sepsis in skeletal muscle different in infants and adults?. An experimental study in rats. *J Pediatr Surg* 1992; 27: 1399-1403.

- 168) Niederman MS, Fein AM. Sepsis syndrome, the adult respiratory distress syndrome, and nosocomial pneumonia: a common clinical sequence. *Clin Chest Med* 1990; 11: 633-656.
- 169) Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Guin F, Lepoutre A, et al. Incidence, risk factors and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. *JAMA* 1995; 274: 969-974.
- 170) Ikka L, Parviainen I, Takala J. Do we really know the epidemiology and clinical course of sepsis. *Yearbook of Intensive and Emergency Medicine*. Berlin: Springer, 1998; 229-237.
- 171) Sewerynek E, Melchiorri S, Reiter RJ, Ortiz G, Lewinski A. Lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity is inhibited by the antioxidant melatonin. *Eur J Pharmacol* 1995; 293: 327-334.
- 172) Maestroni GJM. Melatonin is a therapeutic agent in experimental endotoxic shock. *J Pineal Res* 1996; 20: 84-89.
- 173) Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock. A review of laboratory models and proposal. *J Surg Res*. 1980; 29: 189-201.
- 173 a) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/ SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. 1992;101:1644-55.
- 173 b) J. Iñigo; J.M. Sendra; R. Díaz ; C. Bouza ; A. SarríaSantamera. Epidemiología y costes de la sepsis grave en Madrid. Estudio de altas hospitalarias. *Med. Intensiva* 2006; 30, 5: 197-203.
- 174) Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth. Enzymol*. 186: 407-421, 1990.
- 175) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Rondall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J.Biol.Chem*. 193: 265-275, 1951.
- 176) SPSS para Windows. Versión 10.0 de 1999. SPSS Inc.

- 177) Dommenech i Massons JM, Riba i Lloret MD eds. Una síntesis de los métodos estadísticos en medicina. Monografías de bioestadística y psicología matemática. Ed. Herder. Barcelona 1981.
- 178) Dommenech i Massons JM, Riba i Lloret MD eds. Problemas de estadística aplicada a la medicina. Monografías de bioestadística y psicología matemática. Ed. Herder. Barcelona. 1981.
- 179) Pérez Arellano JL, García Palomo JD, Romero Furones A. Ideas prácticas sobre el manejo estadístico de datos en estudios observacionales y experimentales. Medicina Integral. 1990; 16: 350-361.
- 180) Porta Serra M, Álvarez Dardet C, Bolúmar F, Plasencia A, Velilla E. La calidad de la información clínica (I): Validez. Med Clin (Barc) 1987; 89: 741-747.
- 181) Shapiro S.S. Wilk M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika 52 (3-4): 591-611
- 182) Levene, Howard (1960). Ingram Olkin, Harold Hotelling, et alia, ed. Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling. Stanford University Press. pp. 278-292.
- 183) Hasselgren PO, James JH, Benson DW, Hall-Angeras M, Angeras U, Hiyama DT, Li S, Fisher JE. Total and myofibrillar protein breakdown in different types of rat skeletal muscle: effects of sepsis and regulation by insulin. Metabolism 1989; 38: 634-640.
- 184) Zimmerman JJ. Defining the role of oxyradicals in the pathogenesis of sepsis. Crit Care Med 1995; 616-617.
- 185) Vlessis AA, Goldman RK, Trunckey DD. New concepts in the pathophysiology of oxygen metabolism during sepsis. British Journal of Surgery 1995; 82: 870-876.
- 186) Bondy SC, Lebell CP. Oxygen radical generation as an index of neurotoxic damage. Biomed Environ Sci 1991; 4: 217-223.
- 187) Rafalowska U, Liu GJ, Floyd RA. Peroxidation induced changes in synaptosomal transport of dopamine and gamma-aminobutyric acid. Free Radic Biol Med 1989; 6: 485-492.

- 188) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-365.
- 189) Uchiyama M, Mihara M. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978; 86: 271-278.
- 190) Zimmerman JJ. Oxygen free radicals. En *The pharmacological approach to the critically ill patients*, De. Chernow. 3ª edición. Williams & Wilkins, Baltimore, 1994; 901-926.
- 191) Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990; 9: 515-590.
- 192) Demling R, Lalonde C, Seekamp A, Fiore N. Endotoxin causes hydrogen peroxide induced lung lipid peroxidation and prostanoid production. *Arch Surg.* 1988; 123: 1337-1343.
- 193) Brigham KL. Metabolites of arachidonic acid in experimental lung vascular injury. *Fred Proc* 1985; 44: 43-45.
- 194) Hasselgren PO, Talamini M, James JH, Fisher JE. Protein metabolism in different types of skeletal muscle during early and late sepsis in rats. *Arch Surg* 1986; 121: 918-923.
- 195) Brown PI et al. Liver glutathione and glutathione reductase response of endotoxin treated mice. *Infec Inmun* 1975; 11: 8-13.
- 196) Pacht ER et al. Deficiency of alveolar fluid glutathione in patients with sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Chest* 1991; 100: 1397-1403
-

