Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico

Raúl Carrillo Esper[a,b], Juan Alberto Díaz Ponce Medrano[c], Carlos Alberto Peña Pérez[d], Oscar Iván Flores Rivera[e], Rosalinda Neri Maldonado[e], Adriana Denisse Zepeda Mendoza[e], Ángel Augusto Pérez Calatayud[e], Adriana Ortiz Trujillo[f]

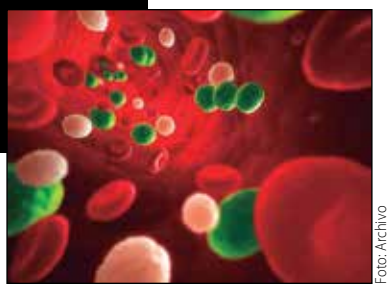


Foto: Archivo

Resumen

La sepsis es una de las principales causas de mortalidad en la unidad de terapia intensiva. El término especies reactivas de oxígeno (ERO) incluye moléculas con un electrón impar, llamadas radicales libres, como el anión superóxido, y también agentes oxidados como el peróxido de hidrógeno. Las ERO pueden reaccionar con muchas moléculas y pueden producir un daño no controlado; sin embargo, también tienen un papel fundamental en el metabolismo celular.

El estrés oxidante es el resultado de la respuesta inflamatoria asociada a la sepsis que produce cambios en la función mitocondrial y en la microcirculación. El objetivo de este trabajo es revisar el papel de las ERO en sepsis y nuevos conceptos relacionados con la teoría metabólica del choque séptico.

Palabras clave: *Sepsis, choque séptico, especies reactivas de oxígeno.*

Reactive oxygen species, sepsis and metabolic theory of the septic shock

Abstract

Sepsis remains the most common cause of death in the intensive care unit. The term Reactive Oxygen Species (ROS) includes molecules with an unpaired electron, called free radicals, such as superoxide anion, and also oxidant agents such as hydrogen peroxide. ROS can react with several molecules and induce an uncontrolled damage in a variety of biomolecules. On the other hand, ROS have essential roles in cell function. Marked oxidative stress as a result of the inflammatory responses inherent with sepsis initiates changes in mitochondrial function and microcirculation. The aim of this paper is to review the roll of ROS in sepsis and new concepts related to the metabolic theory of septic shock.

Key words: *Sepsis, septic shock, reactive oxygen species.*

[a]Catedrático de la Escuela Médico Naval. México, D.F.
[b]Jefe de la Unidad de Terapia Intensiva. Fundación Clínica Médica Sur. México, D.F.
[c]Director de la Escuela Médico Naval. México, D.F.
[d]Profesor adjunto. Escuela Médico Naval. Hospital General Naval de Alta Especialidad. México, D.F.
[e]Residente. Terapia Intensiva. Fundación Clínica Médica Sur. México, D.F.
[f]Cadete. Estudiante de Medicina. Escuela Médico Naval. México, D.F.
Correspondencia: firox83@hotmail.com
Recibido: 12-marzo-2015. Aceptado: 18-agosto-2015.

La sepsis es uno de los síndromes más interesantes y viejos en medicina y hoy se considera una de las principales causas de muerte en los pacientes hospitalizados, muy a la par del infarto agudo al miocardio. En los Estados Unidos, más del 90% de las población no está ni siquiera familiarizada con el término "sepsis", a pesar de que existe un incremento del 70% en las tasas de hospitalización

por sepsis en un periodo de 7 años (de 221 a 377 por 100,000 habitantes), y la incidencia de la sepsis grave posoperatoria va del 0.3 al 0.9%[1]. En nuestro país, existen pocas estadísticas al respecto. En 2009, se realizó un registro en las unidades de terapia intensiva en donde reportaron 27.3% de internamientos por sepsis, con una mortalidad de 30.4%[2]. La progresión de la respuesta inflamatoria sistémica es la principal responsable del desarrollo del choque séptico y de la muerte[3]. La única diferencia en el pronóstico y evolución de estos pacientes deriva en la intensidad y la duración de la inflamación[4].

El sistema cardiocirculatorio se encuentra sumamente afectado durante el choque séptico, debido, entre otros, a un incremento en la expresión y producción de óxido nítrico, este interfiere directamente con el metabolismo del calcio a nivel del cardiomiocito, alterando su función contráctil, además de su efecto tóxico directo sobre la célula miocárdica[5].

La respuesta inflamatoria condiciona una grave disfunción endotelial y liberación de citocinas, además de una respuesta hipermetabólica, lo cual exige mayor demanda de los recursos nutritivos corporales, como el glutatión, crucial en el control de la producción de radicales libres durante el desarrollo y progresión del choque séptico[6]. Existe una gran cantidad de información sobre la generación de las especies reactivas de oxígeno y su relación con el daño endotelial y perpetuador de la inflamación. El objetivo de este trabajo es hacer una revisión del papel fundamental que tienen las especies reactivas de oxígeno en la fisiopatología de la sepsis, además de sus implicaciones clínicas y tener en cuenta las posibilidades terapéuticas para mejorar la sobrevida de los enfermos con sepsis.

El sistema cardiocirculatorio se encuentra sumamente afectado durante el choque séptico, debido, entre otros, al incremento en el óxido nítrico, que interfiere directamente con el metabolismo del calcio a nivel del cardiomiocito, alterando su función contráctil, además de su efecto tóxico directo sobre la célula miocárdica.

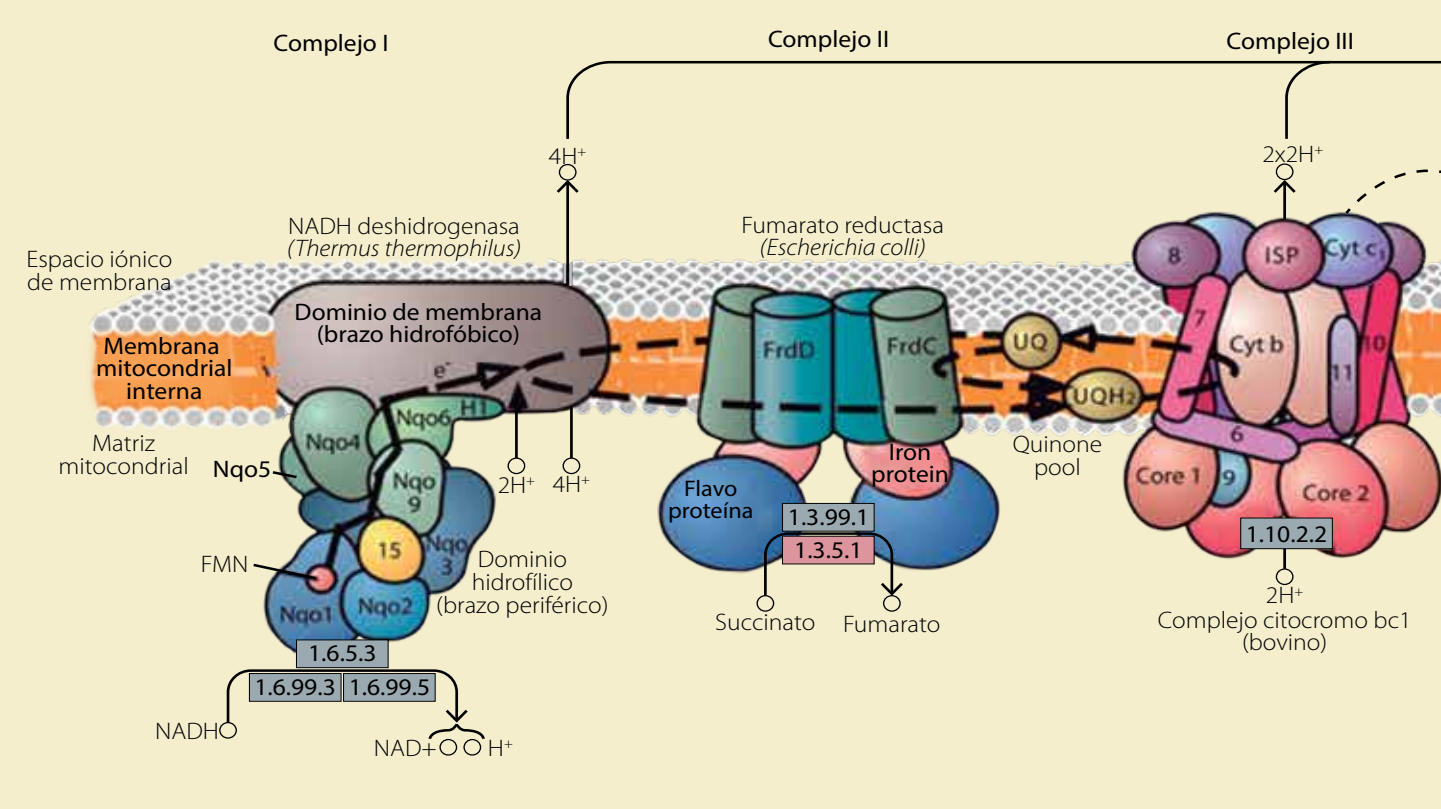
La respuesta inflamatoria condiciona una grave disfunción endotelial y liberación de citocinas, además de una respuesta hipermetabólica, lo cual exige mayor demanda de los recursos nutritivos corporales, como el glutatión, crucial en el control de la producción de radicales libres durante el desarrollo y progresión del choque séptico.

ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son compuestos que se derivan de la molécula de oxígeno (O_2) por reducción química parcial. En este grupo se incluyen a los peróxidos de hidrógeno (H_2O_2), producidos cuando el O_2 es reducido con 2 electrones, y las formas reactivas del oxígeno, que abarcan a los superóxidos y al radical hidroxilo (HO)[7]. Sin embargo, en un sentido más amplio, existen otras especies como el radical alcohoxilo, el radical peroxilo, el dióxido de nitrógeno y el hidroperóxido lípido (LOOH), el hidroperóxido proteína e hiperclorito. Algunas de ellas poseen electrones no apareados y radicales libres, aunque otras no; de ahí que se prefiera usar el término de ERO[8] **(figura 1)**.

Las ERO tienen un papel indiscutible en los procesos fisiológicos habituales, sin embargo al mismo tiempo, pueden ejercer efectos tóxicos. Las ERO se producen como consecuencia del metabolismo y son esenciales para la producción de energía, la síntesis de compuestos biológicamente esenciales y la fagocitosis, un proceso crítico para el sistema inmunológico. Éstas también juegan un papel vital en la transducción de señales, que es importante para la comunicación y función de las células[8].

Por otro lado, en los últimos 20 años se ha incrementado la evidencia que demuestra que las ERO pueden ser las causantes de distintos padecimientos, incluyendo las enfermedades coronarias, el cáncer y el envejecimiento. La reacción del radical hidroxilo con lípidos insaturados es la cascada más conocida de daño inducido por radicales, aunque existen muchos ejemplos de daños a proteínas o al ácido desoxirribonucleico (ADN). Por ejemplo, la reacción de



radicales con proteínas puede llevar a la oxidación de cadenas laterales reactivas de aminoácidos, al entrecruzamiento de proteínas, a la desnaturalización, e incluso dañar a las proteínas cercanas. La oxidación de ADN conlleva a la ruptura de cadenas y a la liberación de bases oxidadas. Consecuentemente, el papel de los antioxidantes, los cuales suprimen dicho daño oxidativo, ha recibido gran atención como proceso fundamental en la contrarregulación del daño producido por ERO[7].

GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO. UN BREVE REPASO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son ubicuas, altamente reactivas, de tiempo de vida media muy corto, se producen en el metabolismo del oxígeno en todos los sistemas biológicos aeróbicos y reaccionan con todas las moléculas que se encuentran a su alrededor, empezando con aquellas que se encuentran muy cercanas a su sitio de formación. Entre las moléculas que se consideran ERO se encuentran los radicales libres, los cuales pueden ser definidos como átomos o moléculas con uno o más electrones desapareados en alguno de sus orbitales electrónicos. Este electrón es generalmente el que le proporciona su alta capacidad reactiva. Los radicales libres derivados del oxígeno son considerados los más importantes radicales producidos por los seres vivos. El oxígeno molecular (dioxígeno) tiene una configuración electrónica única y es considerado por sí mismo un radical libre. La adición de un electrón al dioxígeno forma el radical superóxido. Este radical puede ser producido por diferentes mecanismos en los que se presenta la activación del oxígeno, ya sea por procesos bioquímicos o por irradiaciones electromagnéticas, es considerado el principal ERO porque reacciona con un mayor número de moléculas para formar otras ERO secundarias en donde participa directa o indirectamente en reacciones catalizadas por metales de transición entre los que destacan el hierro y el cobre[9]. La producción del radical superóxido se origina principalmente en la mitocondria[10]. La

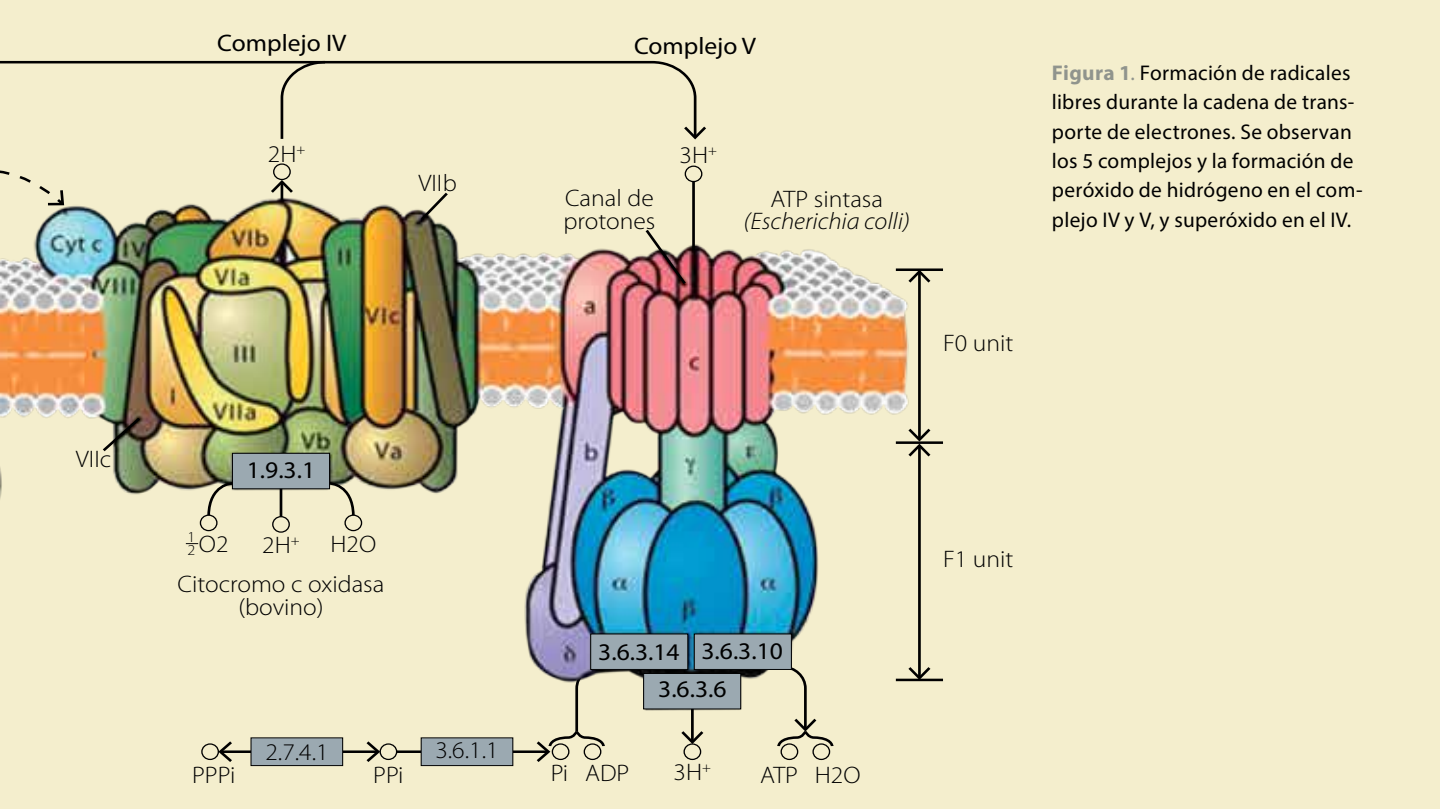


Figura 1. Formación de radicales libres durante la cadena de transporte de electrones. Se observan los 5 complejos y la formación de peróxido de hidrógeno en el complejo IV y V, y superóxido en el IV.

cadena de transporte de electrones es la principal fuente de adenosintrifosfato (ATP) en las células de mamíferos y es, por tanto, esencial para la vida. Durante la transducción de energía, una pequeña cantidad de electrones provenientes de la cadena, libera el radical libre superóxido. Se ha evaluado la cantidad de partículas submitocondriales que se producen en la cadena de transporte de electrones sugiriendo que entre 1 y 3% de los electrones provenientes de ésta pueden generar el radical superóxido. Los complejos I y III de la cadena de transportes de electrones, son los principales generadores de este radical libre. Recientemente se ha demostrado que el radical superóxido proveniente del complejo I, es liberado dentro de la matriz mitocondrial ya que no se han detectado niveles de éste en mitocondrias intactas y, por tanto, los producidos en el complejo III son vertidos al citosol[11]. Una ERO que se produce como resultado del metabolismo celular es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que puede ser generado directamente por algunas enzimas óxido reductasas, como es el caso de la glucosa oxidasa y la isoforma de la nicotinamida adenindinucleótido fosfato reducido (NADPH) oxidasa conocida como DuOXs. Sin embargo, la mayoría del H_2O_2 es producto de la dismutación del radical superóxido que es producido en la mayoría de las reacciones catalizadas por las NADPH oxidasas[12], por la fuga de electrones provenientes de la cadena mitocondrial de transporte de electrones, la biotransformación de xenobióticos y otras flavoproteínas. Otro sitio de producción del H_2O_2, son los peroxisomas, donde se presentan diferentes reacciones de biotransformación en las que el oxígeno es reducido a H_2O_2 por los electrones provenientes de las moléculas a detoxificar; posteriormente, el H_2O_2 es convertido en agua en los propios peroxisomas. Sin embargo, el proceso bioquímico que induce más H_2O_2 es la β-oxidación de ácidos grasos que se lleva a cabo en los peroxisomas; debido a las reacciones enzimáticas de las flavinoxidasas. Se ha estimado que 35% de todo el H_2O_2 formado en el hígado de ratas es producido por estas reacciones. El H_2O_2 es una ERO muy importante ya que al igual que el radical supe-

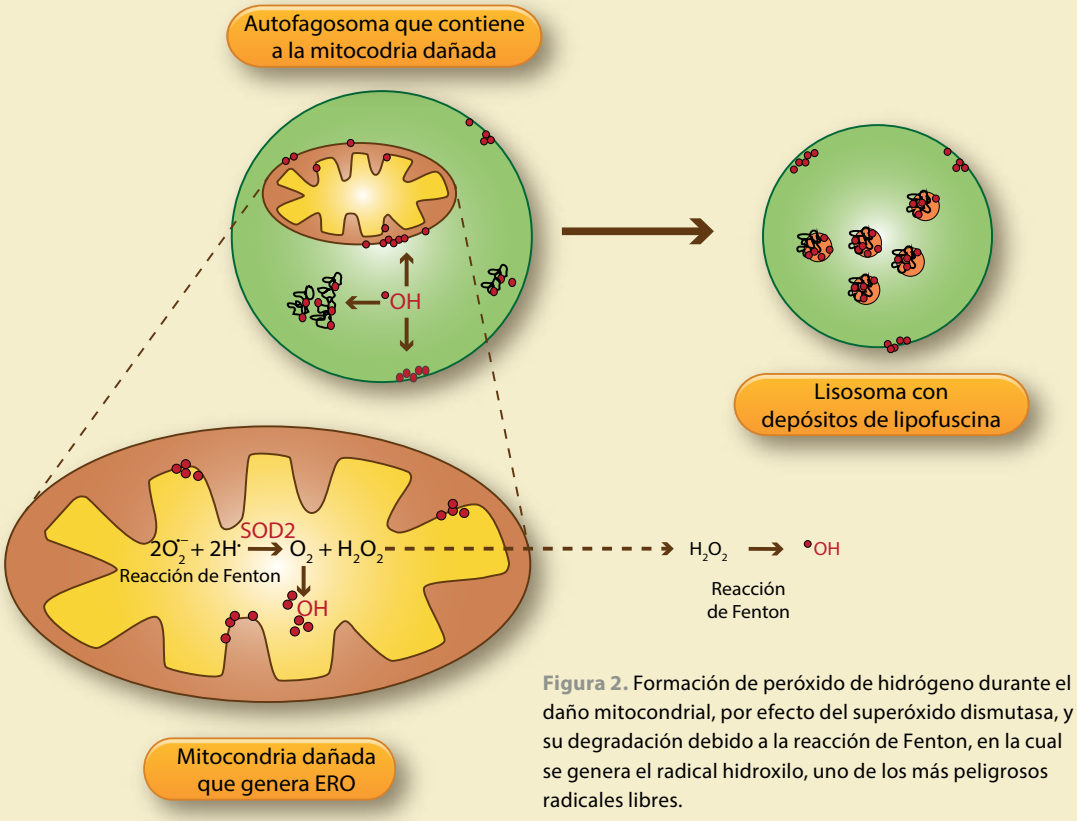


Figura 2. Formación de peróxido de hidrógeno durante el daño mitocondrial, por efecto del superóxido dismutasa, y su degradación debido a la reacción de Fenton, en la cual se genera el radical hidroxilo, uno de los más peligrosos radicales libres.

róxido puede dar origen a otras ERO secundarias. Cuando hablamos de ERO, generalmente hablamos de moléculas que potencialmente podrían causar daños a las biomoléculas. En los últimos años se ha postulado que los radicales libres son moléculas transductoras de señales; el H_2O_2 es uno de los más importantes, ya que se le ha considerado un segundo mensajero porque diferentes tipos de enzimas pueden modular sus concentraciones, como el caso de las óxido reductasas y en especial la DuOXs que incrementan sus niveles celulares o la actividad de enzimas como la catalasa, glutatión peroxidasa y peroxiredoxinas que se encargan de disminuir sus concentraciones celulares[13]. El H_2O_2 es una molécula muy estudiada por ser un segundo mensajero y por sus propiedades fisicoquímicas que le permiten ingresar fácilmente al interior de la célula. Entre las ERO más importantes que se producen durante el metabolismo de los organismos aeróbicos se encuentra el radical hidroxilo que puede ser considerado como la forma sin carga neta del ión hidroxilo. El radical hidroxilo tiene una alta reactividad que lo hace sumamente peligroso y, además, presenta un tiempo de vida muy corto de aproximadamente 10 segundos[14]. Estas propiedades químicas del radical hidroxilo le permiten reaccionar rápidamente con cualquiera de las moléculas que se encuentran a su alrededor. El radical hidroxilo puede ser producido *in vivo* por reacciones en las que intervienen metales de transición como el hierro y el cobre, que participan en diferentes procesos biológicos como la cadena de transporte de electrones. Una de las reacciones más conocidas en donde se produce el radical hidroxilo es la reacción de Fenton; ahí el peróxido de hidrógeno reacciona con el hierro de manera homolítica, formando un anión hidroxilo y un radical hidroxilo ($Fe^{2+} + H_2O_2 + Fe^{3+} + \bullet OH + OH-$)[15]. Sin embargo, no es la única manera

en que se produce *in vivo* el radical hidroxilo, ya que el radical superóxido puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno y en presencia de hierro como catalizador formar oxígeno, un anión hidroxilo y un radical hidroxilo en una reacción conocida como Haber-Weiss, que puede ser descrita en 2 reacciones: la primera entre 2 ERO (O_2•– +H_2O_2 + O_2 + • OH+ OH–), y la segunda, en donde participa el hierro (Fe^{3+}+ O_2•– + Fe^{2}++ O_2)[16]. Por último, entre las ERO destaca el radical óxido nítrico (NO•), el cual es una pequeña molécula que tiene un electrón desapareado sobre el antienlace 2p y el orbital Py y es considerado un radical libre **(figura 2)**.

El radical óxido nítrico (ON) se sintetiza en diferentes tejidos por medio de la óxido nítrico sintetasa (ONs), que durante su actividad enzimática cataliza la reacción de arginina a citrulina y produce el radical óxido nítrico en una reacción oxidante en la que participan 5 electrones. Es muy abundante y es considerada una molécula que participa en muchos procesos de señalización, tales como la neurotransmisión, la regulación de la presión sanguínea, mecanismos de defensa, relajación del músculo liso y la regulación del sistema inmunitario. Tiene un tiempo de vida media de unos cuantos segundos en un medio acuoso, así como una alta estabilidad en un sistema libre de oxígeno. Sin embargo, tiene una alta capacidad de difusión en las membranas y en el citoplasma, por lo que participa en fenómenos como la transmisión neuronal y la plasticidad sináptica, en el sistema nervioso central. En el medio intracelular, el ON reacciona con el oxígeno y el agua para formar nitratos y aniones nitrito[17].

ANTIOXIDANTES NATURALES

La exposición a las ERO producidas por una diversa cantidad de procesos fisiológicos o ambientales, ha llevado a los organismos a desarrollar numerosos mecanismos de defensa. Los organismos se protegen contra el estrés oxidativo inducido por las ERO con mecanismos que pueden ser preventivos, de reparación, defensas físicas y defensas antioxidantes. Estos últimos son de los más importantes y están compuestos por enzimas antioxidantes entre las que se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPx) y la catalasa (CAT) y otros no enzimáticos entre los que se encuentran el ácido ascórbico (vitamina C), α-tocoferol (vitamina E), glutatión reducido (GSH), carotenoides, flavonoides y otros antioxidantes. En condiciones normales, siempre existe un equilibrio entre las ERO y las defensas antioxidantes para que los organismos se encuentren en las condiciones necesarias para la supervivencia y la salud del individuo[18].

Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes a bajas concentraciones, retrasan o previenen significativamente la oxidación de sustratos oxidables (por ejemplo: lípidos, proteínas y ADN). Por lo anterior, los antioxidantes minimizan el daño oxidativo en sistemas biológicos, previniendo la formación de ERO o por quelación de las ERO antes de que éstas puedan reaccionar con otras biomoléculas antioxidantes. Pueden ser compuestos endógenos producidos por el organismo como parte de su defensa de las ERO o compuestos exógenos adquiridos de la dieta. Los antioxidantes pueden inhibir o retardar la oxidación de dos formas: captando radicales libres, en cuyo caso se denominan antioxidantes primarios; o por mecanismos que no estén relacionados con la captación de radicales libres (captación del oxígeno, unión a metales pesados, etc.), en cuyo caso se conocen como antioxidantes secundarios.

En los alimentos procesados se pueden encontrar tanto antioxidantes sintéticos como naturales. Sin embargo, en las últimas décadas se ha centrado la atención en la investigación de los antioxidantes naturales como conservadores de alimentos, pero también como reductores de riesgos en lo que concierne a enfermedades coronarias.

FISIOPATOLOGÍA DE LA SEPSIS

Las células del sistema inmunitario innato, como los monocitos/macrófagos y las células dendríticas (CD), expresan "receptores de reconocimiento de patrones" (PRR) que reconocen estructuras muy conservadas de los microorganismos. Entre los PRR encontramos los receptores tipo toll (TLR), los cuales presentan respectivos ligandos activa vías de señalización que inducen la respuesta inflamatoria. Este proceso requiere de múltiples moléculas adaptadoras intracelulares tales como TIRAP y MyD88,

las cuales se asocian al dominio citoplasmático de la proteína TLR e inducen la disociación del complejo IKK- αB para liberar el factor de transcripción NF-KB; este factor se trasloca al núcleo e induce la transcripción de los genes que codifican citocinas proinflamatorias. Y se ha demostrado que los pacientes sépticos presentan niveles elevados de citocinas proinflamatorias[19]. El lipopolisacárido (LPS) es el componente mayoritario de la pared celular de las bacterias gramnegativas, mientras que el peptidoglicano (PGN) es el principal componente de la pared celular de las bacterias grampositivas; estos PAMP son reconocidos a través del TLR4 y del TLR2 respectivamente. Adicionalmente, el ADN bacteriano es reconocido por el TLR9 presente en los endolisosomas debido a que contiene secuencias CpG. El reconocimiento inicial de los patógenos puede ser llevado a cabo, entre otros, por los macrófagos y mastocitos residentes en los tejidos, los cuales liberan diversos mediadores inflamatorios tales como quimiocinas, citocinas, aminas vasoactivas, eicosanoides y productos de cascadas proteolíticas. Cabe destacar que las citocinas proinflamatorias TNF- α, IL-1B, e IL-6 inducen la respuesta de fase aguda, así como la activación del endotelio y de otros leucocitos.

El daño causado a los tejidos por todos esos mediadores inflamatorios liberados induce, a su vez, la liberación de moléculas endógenas que también pueden activar el sistema inmune. La proteína HMGB1 es una proteína no histona que modifica el plegamiento del ADN; esta puede ser liberada pasivamente al medio extracelular por células necróticas o de manera activa por los monocitos y los macrófagos activados. En el 2005, se reportó que la concentración plasmática de la HMGB1 de los pacientes con sepsis grave y choque séptico, en un estudio multicéntrico realizado en Europa, se encontró que la cinética de las concentraciones plasmáticas de la HMGB1 en los pacientes sépticos puede variar, dependiendo de la fuente primaria del sitio de infección, la HMGB1 induce la activación del TLR2 y del TLR4 promoviendo aún más la producción de citocinas proinflamatorias en los monocitos[20].

ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EN SEPSIS

En los enfermos graves, mantener el equilibrio prooxidante y antioxidante es crucial. Algunas condiciones como sepsis, pancreatitis aguda, quemaduras graves, trauma, choque hemorrágico y cirugía mayor conllevan a una respuesta inflamatoria sistémica[21]. Diferentes escenarios clínicos comparten como proceso fisiopatológico la disfunción endotelial aguda lo que favorece la inflamación, la coagulación y un incremento en la permeabilidad capilar[22]. Estos eventos contribuyen al edema pulmonar no cardiogénico, coagulación intravascular diseminada, isquemia, entre otros. Además, la redistribución, la pérdida de líquidos corporales y una ingesta inadecuada contribuyen de manera secundaria a una disminución de los antioxidantes naturales en los pacientes críticos[23].

El concepto de falla bioenergética, debido a la disfunción mitocondrial como parte del mecanismo fisiopatogénico del choque séptico, fue introducido hace más de 30 años[24]. Después, fue reemplazada en la siguiente década por el concepto de disfunción endotelial y pérdida del control vascular.

Una mitocondria aislada del músculo esquelético de un paciente con choque séptico y/o endotóxico, demuestra alteraciones en su mecanismo normal de respiración. Estas mitocondrias disfuncionales tienen una disminución en la captación de oxígeno de un 30 a 60%. La disfunción respiratoria es debido a una inhibición de la transferencia de electrones, y puede ser inferida por la disminución en la tasa de respiración[25]. La inhibición en la transferencia de electrones puede ser entendida debido a una producción excesiva de ON por las mtONS (óxido nítrico sintetasa mitocondrial), que condicionan: a) un efecto irreversible de ON y ONOO sobre la NADH – ubiquitina reductasa y sobre el ubiquinol – citocromo c reductasa; y b) una inhibición O_2 competitiva de la actividad de citocromo oxidasa. La disminución de la tasa de respiración de la mitocondria aislada va de la mano con la disminución de la temperatura y disminución (cerca de 30%) de la captura general de oxígeno, evento característico del choque séptico. La inhibición de la captación de oxígeno a nivel mitocondrial es parcialmente

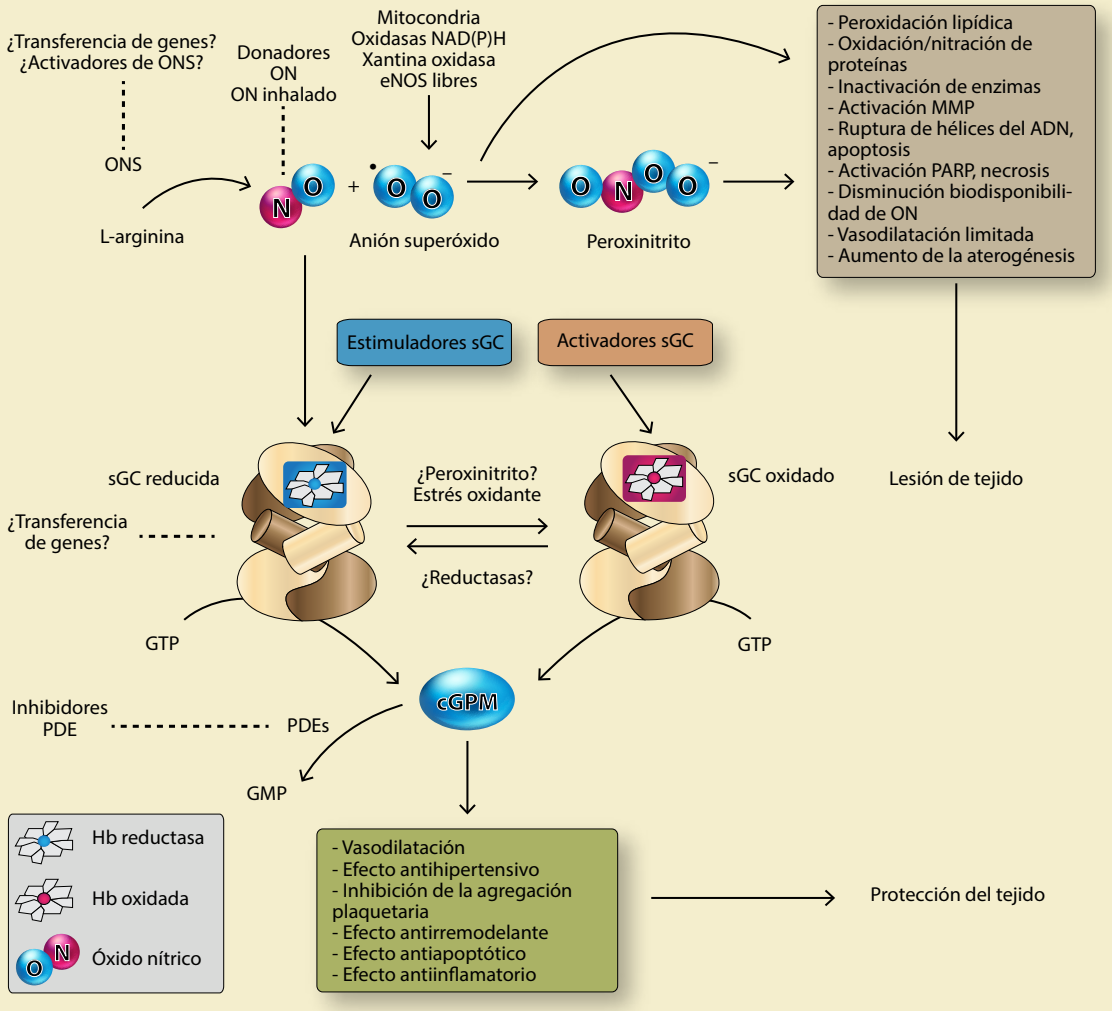


Figura 3. Durante la sepsis existe gran cantidad de efectos deletéreos, principalmente aquellos derivados del óxido nítrico.

reversible *in vitro* por la adición de albumina sérica, lo que significa que es debido a los ácidos grasos. La disfunción mitocondrial en choque séptico es reversible *in vivo*, demostrado en muestras subsecuentes tomadas en pacientes recuperados. Las mitocondrias aisladas de ratas con choque endotóxico o séptico demuestran un incremento en la formación de H_2O_2 (desde 0.13 a 0.36 nmol H_2O_2 /min/mg proteína y de 0.95 a 2.4 nmol H_2O_2 /min/mg)[26].

Un evento fisiopatológico en sepsis es la disfunción mitocondrial que se manifiesta por un incremento en los niveles de lactato correlacionado con mal pronóstico[27]. Cuando existe una hiporreactividad a las catecolaminas, se desarrolla choque séptico, con hipotensión grave y disfunción multiorgánica. Sin embargo, esta hiporreactividad es multifactorial, ya que el peroxinitrito interfiere con la habilidad de glutatión para reducir la hiporreactividad vascular y la disfunción endotelial[28]. Macarthur[29] evaluó la superóxido dismutasa (SOD) en animales, y demostró que si eliminan el superóxido, las catecolaminas encargadas de la vasoconstricción no son desactivadas **(figura 3)**.

La xantina oxidasa se acumula cuando se disminuyen los niveles de ATP, debido a una disminución del aporte de O_2 en sepsis[30]. Y se ha demostrado

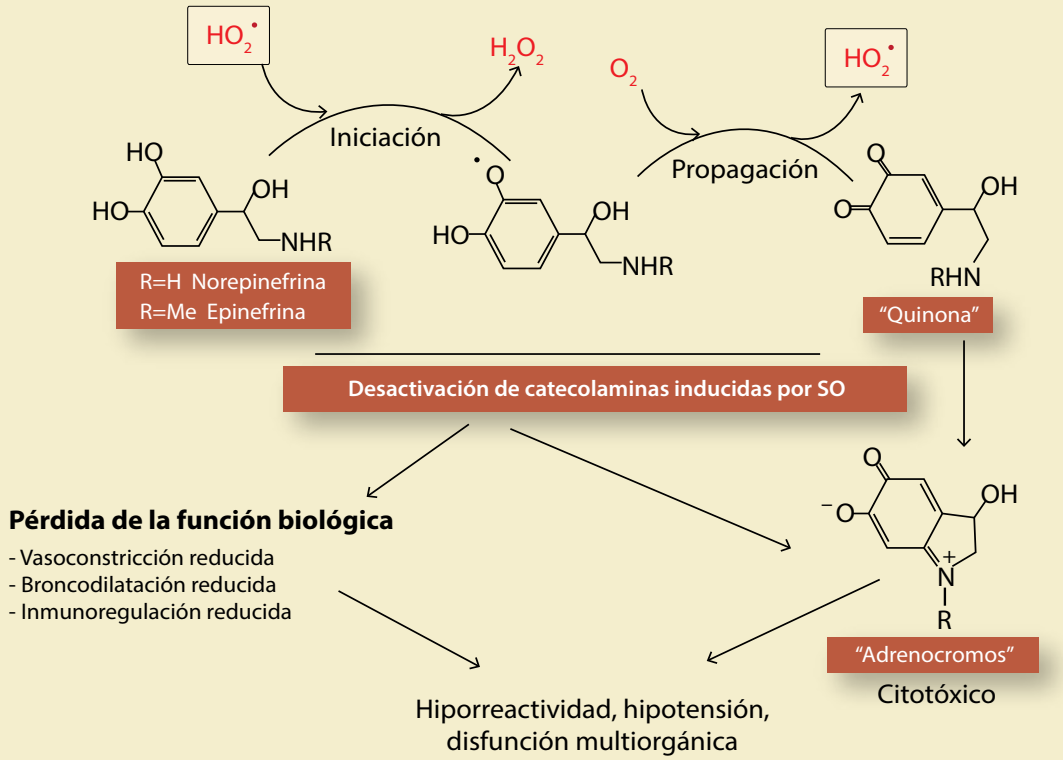


Figura 4. Otro de los efectos de daño de los ERO durante la sepsis es la desactivación de las catecolaminas por especies reactivas de oxígeno.

disminución significativa de la sobrevida en pacientes con niveles más altos de xantina oxidasa[31]. La xantina oxidasa se ha estudiado para valorar el daño oxidante durante la sepsis y sus resultados en relación con algunos otros biomarcadores. Niveles mayores a 4 U/ mg de la proteína, más un APACHE II mayor a 20 incrementa la mortalidad específica desde 50 hasta 100%[32].

El ON ha demostrado que juega un rol importante en la hipotensión durante el choque séptico, el daño hepático secundario condiciona producción de endotoxinas que disminuyen los niveles de los antioxidantes naturales (selenio y zinc). Clínicamente, los estudios han demostrado que suplementar a los pacientes con selenio puede disminuir la mortalidad[33].

El ON se sintetiza en el endotelio por la óxido nítrico sintetasa (ONs). La producción fisiológica del óxido nítrico es de suma importancia para la regulación de la presión sanguínea y la distribución del flujo. Existe clara evidencia científica de que la sobreproducción de ON inducida por la ONs puede contribuir a hipotensión, cardio-depresión e hiporreactividad vascular. Los lipopolisacáridos y las citocinas como el factor de necrosis tumoral, interleucina-1 e interferón gamma inducen la expresión de ONs en el endotelio, en el músculo liso, macrófagos y en las células parenquimatosas[34] **(figura 4)**.

Además, existe un incremento en la producción de ERO como el óxido nítrico, aniones superóxidos, y los peroxinitritos. La sobreproducción de óxido nítrico promueve hiporreactividad e hipotensión secundario a la liberación de endotoxinas (los inhibidores de la sintasa de óxido nítrico como la aminoguanidina y la N- iminietil-L- lisina atenúan la hipotensión y no reducen la mortalidad asociada a choque séptico)[35].

La sobre producción de superóxido tiene un papel fundamental en las secuelas del choque séptico. Primero, el superóxido es un mediador proinflamatorio. Algunas de las propiedades proinflamatorias incluyen el reclutamiento de neutrófilos a los sitios de mayor daño, formación de factores quimiotácticos, daño al DNA, iniciación de la peroxidación y liberación de citocinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral, interleucina 1, y la vía de activación del factor nuclear Beta. El peroxinitrito perpetúa el efecto proinflamatorio del superóxido, y también desactiva a la superóxido dismutasa[36].

El peroxinitrito posee efectos proinflamatorios citotóxicos independientes que incluyen: la iniciación de la peroxidación lipídica, la inactivación de una gran cantidad de enzimas y la depleción indirecta de glutatión, además de causar un daño al ADN resultando en la activación de la enzima nuclear poli sintetasa, depleción de adenino dinucleótido (NAD), y de ATP lo que condiciona daño celular irreversible, situación demostrada en el choque septico[37].

Como elemento central de la red de mediadores inflamatorias durante el choque séptico, los superóxidos y/o el peroxinitrito contribuyen de manera significativa a la disfunción multiorgánica. Existen estudios experimentales que demuestran que la hiporreactividad de los vasos a norepinefrina exógena se debe a una desactivación de las mismas por el superóxido. La norepinefrina desactivada no es capaz de mantener la presión sanguínea[38].

Estudios *in vitro* han demostrado que los antioxidantes naturales, como la cisteina, glutation y el ácido ascórbico, son removedores del peroxinitrito e inhiben su capacidad oxidante. Existe una gran depleción del glutatión celular en las células endoteliales y las células del músculo liso después de la aplicación endógena o exógena de peroxinitrito. Estudios recientes demuestran que el glutation endógeno tiene un papel importante en disminuir y controlar la hiporreactividad vascular y la disfunción endotelial inducida por peroxinitrito durante el choque asociado a endotoxinas. Algunos estudios demuestran que la depleción de glutation endógeno incrementa los efectos citotóxicos del peróxido de hidrogeno y las ERO[39].

En los enfermos graves, mantener el equilibrio pro-oxidante y antioxidante es crucial. Condiciones como sepsis, pancreatitis aguda, quemaduras graves, trauma, choque hemorrágico y cirugía mayor conllevan una respuesta inflamatoria sistémica. Diferentes escenarios clínicos comparten el proceso de la disfunción endotelial aguda, que favorece la inflamación, coagulación y un incremento en la permeabilidad capilar. Esto contribuye al edema pulmonar no cardiogénico, coagulación intravascular diseminada, isquemia. Además, la redistribución, la pérdida de líquidos y una ingesta inadecuada contribuyen a una disminución de los antioxidantes naturales en los pacientes.

Es bien conocido, desde la década de los setentas, que el superóxido interactúa con las catecolaminas (por lo que de alguna manera se consideran antioxidantes) convirtiéndolo en adrenocromos. Se considera que estos adrenocromos son mediadores específicos de citotoxicidad y daño celular. Por lo que se han utilizado miméticos de la superóxido dismutasa para mejorar la respuesta a los vasopresores durante un estado de choque séptico[40].

TEORÍA METABÓLICA DE LA SEPSIS

Por décadas, el choque séptico se ha atribuido a una respuesta inmune sobreactivada. Sin embargo, la modulación inmune ha fallado en reducir la mortalidad, lo que pone en duda el papel causal de la respuesta inmune en el desarrollo del choque séptico. Una teoría postula que el choque séptico es el resultado de una acumulación generalizada de peróxido de hidrógeno, un tóxico para las células, generado como consecuencia del estado hipermetabólico que acompaña a la respuesta inmune[6]. El choque séptico causa una falla progresiva de los mecanismos vitales de la homeostasis, lo que resulta en inmunosupresión, coagulopatía y disfunción microvascular, manifestado clínicamente en hipotensión refractaria y disfunción orgánica múltiple.

La respuesta hipermetabolica que acompaña a la respuesta inflamatoria sistémica, exige mayores demandas sobre la reserva energética. Un elemento crucial que disminuye de manera temprana conforme progresa el choque séptico es el glutatión. El glutatión es el principal suplemento responsable de suministrar equivalentes reductores para neutralizar el peróxido de hidrógeno. Sin glutatión, el peróxido de hidrógeno puede elevarse a niveles tóxicos en los tejidos y en la sangre, lo que puede condicionar daño oxidativo grave a los diferentes órganos y la microvasculatura. La exposición continua al peróxido de hidrógeno puede resultar en la disfunción micro vascular, fuga capilar y choque séptico. La evidencia científica que demuestra la estrecha relación entre las disfunción orgánica y los niveles elevados de peróxido de hidrógeno en pacientes con choque séptico va en incremento[39] **(figura 5)**.

ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Existe una gran cantidad de componentes derivados de todas estas reacciones que pueden ser considerados como marcadores de estrés oxidativo en sepsis. Así mismo, se han desarrollado diferentes técnicas para medirlos. Sin embargo, aún no estamos en la posibilidad para identificar un estándar de referencia para la evaluación del estrés oxidativo[40]. El método ideal para medir las especies reactivas de oxígeno es su concentración sérica, pero al ser moléculas lábiles e inestables se dificulta su determinación.

Los radicales libres son moléculas de vida media muy corta, solo es posible medirlos por medio de una resonancia paramagnética de electrones (RPE). La RPE se ha aplicado de manera efectiva en modelos animales, y aunque es difícil, no es imposible aplicarlo en humanos. A excepción del ascorbilo, radical libre presente en humanos sanos, las variaciones en la intensidad de la señal del RPE se han propuesto como un marcador de estrés oxidante. Sin embargo, aún no se han identificado ni los valores, ni las variaciones normales en la intensidad del RPE.

La producción global de oxidantes producida por fagocitos estimulados puede ser medida por quimioluminiscencia en células recién aisladas, estimuladas *ex vivo*. Este método no permite una identificación clara de las ERO que se han producido. Se han aplicado muchos métodos indirectos para medir productos estables derivados de la actividad de las ERO en las biomoléculas: isoprostanos, hidroxinonenal, peróxidos lipídicos, proteínas nitradas y oxidados, compuestos clorinados, glutatión oxidado y malondialdehido, el cual se detecta como reactantes de los ácidos tiobarbitúricos. Estas estrategias no son específicas para demostrar estrés oxidante y tienen muy alto riesgo de arrojar falsos reportes por artefactos[40,41].

El tratamiento con inhibidores de la síntesis de ON, ha demostrado mejorar las variables hemodinámicas y la sobrevida en modelos animales de choque séptico. En humanos, la inhibición de la síntesis de ON, ha demostrado alterar las variables hemodinámicas en estudios a corto plazo; sin embargo, aún no se han demostrado los efectos de esta estrategia en estudios más prolongados[40].

La inyección de lipopolisacáridos en un modelo experimental de sepsis, indujo hipotensión temprana e incremento en la expresión de ONs- 2, lo que potencia la actividad de mieloperoxidasa y los metabolitos de ON en el musculo esquelético. En un modelo experimental de ligadura-punción del íleo terminal en ratas, se demostró que al presentar signos de disfunción orgánica múltiple se origina una pobre respuesta a vasoconstrictores y una mortalidad de alrededor del 75%. Sin embargo, si se ministra previamente 7- nitroindazol (inhibidor de la sintasa de óxido nítrico neuronal) se previenen estas alteraciones y reduce la mortalidad, a pesar de que la aplicación de 7- nitroindazol como antioxidante después de la ligadura, no tiene ningún efecto[17].

CONCLUSIONES

Durante los últimos años, existe un claro incremento en la cantidad de información que demuestra el papel de las especies reactivas de oxígeno con particular atención en el superóxido, peroxinitritio y óxido nítrico, en la fisiopatología del choque séptico. Por lo que es necesario comprender la formación y los mecanismos de señalización y transducción con el fin de modificar el curso de la

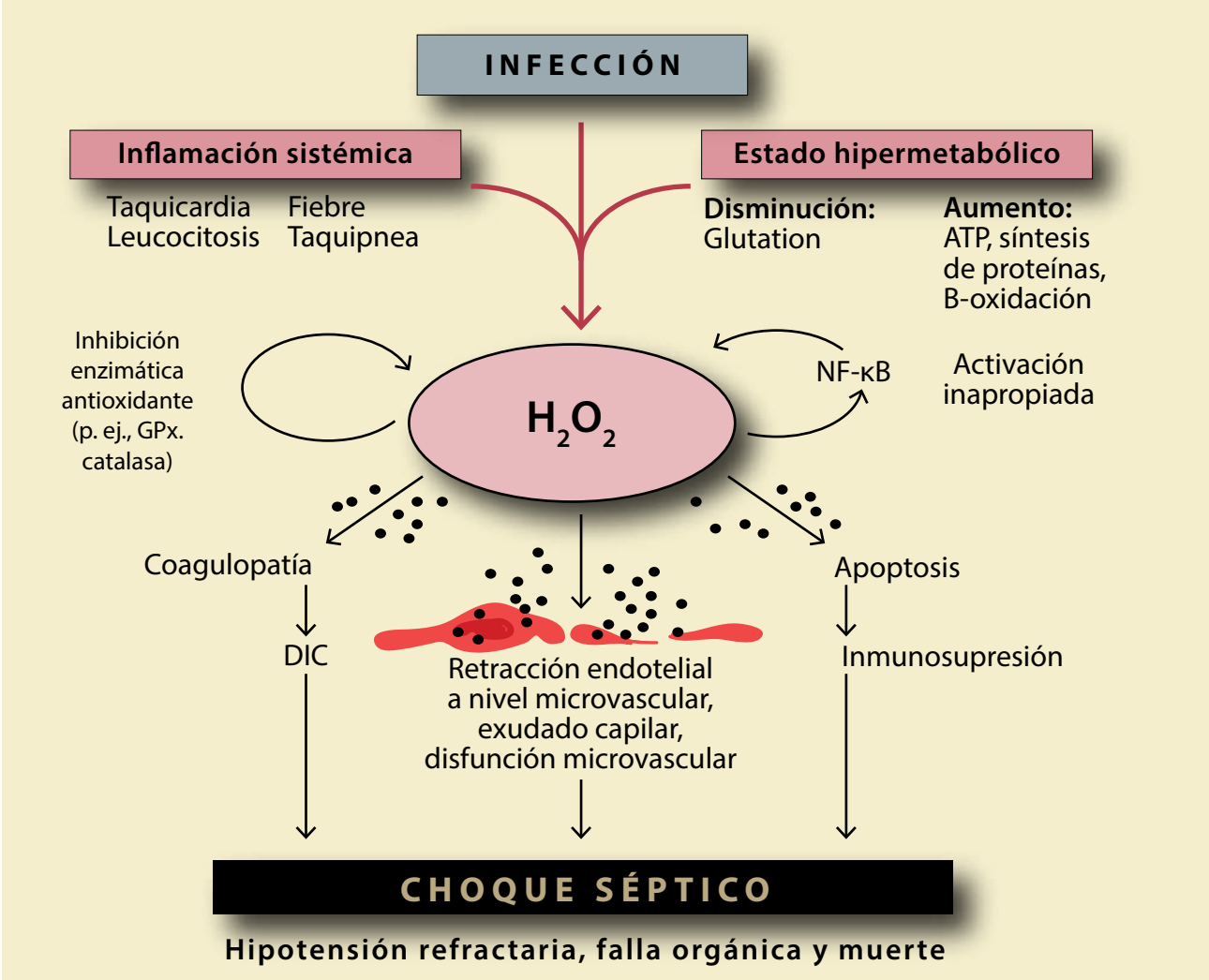


Figura 5. Teoría metabólica de sepsis. En este modelo se considera que el peróxido de hidrógeno y la disminución secundaria de glutatión son los principales factores de daño en sepsis.

enfermedad y así poder desarrollar nuevos objetivos terapéuticos para mejorar la sobrevida de nuestros enfermos.

CONFLICTO DE INTERESES

Sin conflicto de intereses por declarar por ninguno de los autores. ●

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schorr C, Zanotti S, Dellinger P. Severe sepsis and septic shock. Management and performance improvement. Virulence. 2014;5:190-99.
2. Carrillo-Esper R, Carrillo-Córdova JR, Carrillo-Córdova LD. Estudio epidemiológico de la sepsis en unidades de terapia intensiva mexicanas. Cirugía y Cirujanos. 2009; 77:301-8.
3. Goldenberg NM, Steinberg BE, Slutsky AS, Lee WL. Broken barriers: a new take on sepsis pathogenesis. Sci Transl Med. 2011;3:88-125.
4. Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, Cuschieri J, Cuenca AG, Gao H, Hayden DL, Hennessy L, Moore EE, et a l. A genomic storm in critically injured humans. J Exp Med. 2011;208:2581-90.
5. Nduka OO, Parrillo JE. The pathophysiology of septic shock. Crit Care Clin. 2009;25(4):677-702.
6. Pravda J. Metabolic theory of septic shock. World J Crit Care Med. 2014;3:45-54.
7. Le Bras M, Clement MV, Pervaiz S, Brenner C. Reactive

oxygen species and the mitochondrial signaling pathway of cell death. Histol Histopathol. 2005;20:205-20.
8. Apel K, Hirt H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. Annu Rev Plant Biol. 2004;55:373-99.
9. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress. Current Medicinal Chemistry. 2005;12:1161-208.
10. Cadenas E, Sies H. The lag phase. Free Radical Research. 1998;28:601-9.
11. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. Am J Med. 1991;91:14-22.
12. Lambeth JD. Nox/Duox family of nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate) oxidases. Current Opinion in Hematology. 2002;9:11-17.
13. Antunes F, Cadenas E. Estimation of H^2O^2 gradients across biomembranes. FEBS Letters. 2000;475:121-6.
14. Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence specific binding. Journal of Molecular. Biology. 2000;304:55-68.
15. Leonard SS, Harris GK, Shi X . Metal induced oxidative stress and signal transduction. Free Radical Biology and Medicine. 2004;37:1921-42.
16. Liochev SI, Fridovich I. The Haber-Weiss cycle–70 years later: An alternative view. Redox Report. 2002;7:55-7.
17. Duma D, Fernandes D, Bonini MG, Stadler K, Mason RP, et al. NOS-1-derived NO is an essential triggering signal for the development of systemic inflammatory responses. European Journal of Pharmacology. 2011; 668:285-92.
18. Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. Biofactors. 1997;6:391-7.
19. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. Int Rev Immunol. 2011;30:16-34.
20. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature. 2008;454:428-35.
21. Crimi E, Sica V, Williams-Ignarro S, Zhang H, Slutsky AS, Ignarro LJ, Napoli C. The role of oxidative stress in adult critical care. Free Radic Biol Med. 2006;40:398-406.
22. Volk T, Kox WJ. Endothelium function in sepsis. Inflamm Res 2000; 49: 185-198.
23. Bernal ME, Varon J, Acosta P, Montagnier L. Oxidative stress in critical care medicine. Int J Clin Pract. 2010; 64:1480-8.
24. Shumer W, Gupta TK, Moss GS, Nyhus L. Effect of endotoxemia on liver cell mitochondria in man. Ann Surg. 1970; 171:875-82.
25. Callahan LA, Stofan DA, Szweda LI, Nethery DE, Supinski GS. Free radicals alter maximal diaphragmatic mitochondrial oxygen consumption in endotoxin induced sepsis. Free Radic Biol Med. 2001;30:129-38.
26. Boveris A, Alvarez S, Navarro A. The role of mitochondrial nitric oxide synthase in inflammation and septic shock. Free Radic Biol Med. 2002;33:1186-93.
27. Svistunenko DA, Davies N, Brealey D, Singer M, Cooper CE. Mitochondrial dysfunction in patients with severe sepsis: an EPR interrogation of individual respiratory chain components. Biochim Biophys Acta. 2006;1757:262-72.
28. Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. Free Radic Biol Med. 2002;33: 1173-85.
29. Macarthur H, Westfall TC, Riley, Misko TP, Salvemini D. Inactivation of catecholamines by superoxide gives new insights on the pathogenesis of septic shock. Proc Natl Acad Sci. 2000;97:9753-8.
30. Motoyama T, Okamoto K, Kukita I , Hamaguchi M, Kinoshita Y, Ogawa H. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. Crit Care Med. 2003;31:1048-52.
31. Luchtemberg MN, Petronilho F, Constantino L , Gelain DP, Andrades M, Ritter C, et al. Xanthine oxidase activity in patients with sepsis. Clin Biochem 2008;41:1186- 90.
32. Kirkeboen KA, Strand OA. The Role of nitric oxide in sepsis- an overview. Acta Anaesthesiol Scand. 1999;43:275-88.
33. Parratt JR. Nitric oxide. A key mediator in sepsis and endotoxaemia. J Physiol Pharmacol. 1997;48:493-506.
34. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Pharmacol Rev. 2001;53:135-59.
35. Szabo C. Nitric oxide, peroxynitrite and poly (ADP-Ribose) synthase: biochemistry and pathophysiological implications. En: Rubanyi GM (ed). Pathophysiology and clinical application of nitric oxide. Harwood, NJ: Academic Publishers; 1999. pp 69-98.
36. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Me. 20;1992:864-74.
37. Phelps DT, Ferro TJ, Higgins PJ, Shankar R, Parker DM, Johnson A. TNF-alpha induces peroxynitrite-mediated depletion of lung endothelial glutathione via protein kinase C. Am. J. Physiol. 1995;269:L551-9.
38. Bindoli A, Deeble DJ, Rigobello MP, Galzigna L. Direct and respiratory chain-mediated redox cycling of adrenochrome. Biochim Biophys Acta. 1990;1016:349-56.
39. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. Mol Aspects Med. 2009;30:1-12.
40. Rahman I, Biswas SK. Noninvasive biomarkers of oxidative stress: reproducibility and methodological issues. Redox Rep. 2004;9:125-43.
41. Salvemini D, Wang ZQ, Stern MK, Currie MG, Misko TB. Peroxynitrite decomposition catalysts: therapeutics for peroxynitrite-mediated pathology. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:2659-63.