

# LOS PACIENTES SÉPTICOS EN TERAPIA INTENSIVA NO TIENEN MAYORES NIVELES SISTÉMICOS DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS) QUE LOS VOLUNTARIOS SANOS

REVISTA ARGENTINA DE MEDICINA

ISSN 1515-3460

Buenos Aires

Chapela SP, Burgos I, Ballestero FM y col. Los pacientes sépticos en terapia intensiva no tienen mayores niveles de especies reactivas de oxígenos [ROS] sistémicos que los voluntarios sanos. *Rev Arg Med* 2017;5(4):213-219

**SEPTIC PATIENTS IN THE INTENSIVE CARE UNIT DO NOT HAVE HIGHER SYSTEMIC LEVELS OF REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) THAN HEALTHY VOLUNTEERS**

Sebastián P. Chapela,<sup>1,2</sup> Isabel Burgos,<sup>1</sup> Florencia M. Ballestero,<sup>2</sup> María S. Raña,<sup>2</sup> Florencia Lascar,<sup>2</sup> Santiago Sac,<sup>2</sup> Pablo Lucero,<sup>2</sup> Emiliano J. Descotte,<sup>2</sup> Elías D. Soloaga,<sup>2</sup> Miguel A. Blasco,<sup>2</sup> Manuel Alonso,<sup>3</sup> Carlos A. Stella<sup>2</sup>

Recibido: 15 de septiembre de 2017.

Aceptado: 29 de octubre de 2017.

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

<sup>2</sup> Servicio de Terapia Intensiva, Hospital Británico de Buenos Aires.

<sup>3</sup> Ciclo Básico Común, Universidad de Buenos Aires.

## RESUMEN

**Introducción.** El daño oxidativo es postulado como parte de la fisiopatología de la sepsis. Las especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species*, ROS) serían su causa. No hay evidencia de los niveles de ROS medidos en sangre venosa en pacientes sépticos y su relación con la mortalidad en terapia intensiva (UTI). **Objetivos.** Observar si hay diferencias entre los niveles de ROS medidos en sangre venosa en pacientes sépticos y aquellos obtenidos en controles sanos y determinar si los pacientes que mueren en UTI tienen niveles de ROS más altos que los que sobreviven. **Material y métodos.** Estudio prospectivo observacional. Se incluyeron pacientes sépticos internados en UTI mayores de 18 años y menores 80 años entre 2014 y 2016 y voluntarios sanos. Se excluyeron pacientes embarazadas. Se midió con la técnica de diclorofluorosceína. **Resultados.** No hubo diferencias significativas en los niveles de ROS medidos con diclorofluorosceína entre pacientes sépticos y voluntarios sanos (emisión media: 0,1 contra 0,109 [ $p = 0,36$ ]) ni entre los pacientes que morían en la internación en UTI y los que sobrevivían (emisión media, 0,103 contra 0,099 [ $p = 0,7$ ]). **Conclusiones.** Los pacientes sépticos no tienen mayores niveles de ROS sistémicos que los voluntarios sanos y los pacientes que mueren en terapia no tienen mayores niveles de ROS sistémicos que aquellos que sobreviven. Los niveles de ROS en sangre venosa no serían parte de la fisiopatología de la sepsis.

**PALABRAS CLAVE.** Sepsis, daño oxidativo, especies reactivas de oxígeno.

## ABSTRACT

**Introduction.** Oxidative damage is postulated as part of the pathophysiology of sepsis. The reactive oxygen species (ROS) would be the cause of said damage. There is no evidence of ROS levels in septic patients' venous blood and their association with mortality in the intensive care unit (ICU). **Goals.** To observe if there are differences between ROS levels measured in venous blood in septic patients and those obtained in healthy controls, and to determine whether patients who die in an ICU have higher ROS levels than those who survive. **Material and methods.** Prospective observational study. We included septic patients hospitalized in ICUs above 18 years and below 80 years of age between 2014 and 2016, and healthy volunteers. Pregnant patients were excluded. Levels were measured through dichlorofluorescein technique. **Results.** There were no significant differences in ROS levels measured through dichlorofluorescein technique between septic patients and healthy volunteers (mean emission, 0.1 vs 0.109 [ $p = 0.36$ ]) or between patients dying while being hospitalized in the ICU and those who survived (mean emission, 0.103 vs. 0.099 [ $p = 0.7$ ]). **Conclusions.** Septic patients do not have higher systemic ROS levels than healthy volunteers, and patients who die while being in intensive care do not have higher systemic ROS levels than those who survive. ROS levels in venous blood would not be part of the pathophysiology of sepsis.

**KEY WORDS.** Sepsis, oxidative damage, reactive oxygen species.

Los autores manifiestan no poseer conflictos de intereses.

## AUTOR PARA CORRESPONDENCIA

Sebastián P. Chapela.

Caldén 886 (1408), CABA. Correo electrónico: spchapela@hotmail.com

## Introducción

La sepsis es una patología cuya incidencia está en aumento. Su mortalidad está relacionada con la falla multiorgánica (1) y, según se ha reportado, puede llegar al 40% (1).

Los mecanismos desencadenantes de las fallas orgánicas parecen ser múltiples, y las especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species*, ROS) podrían ser uno de ellos. La producción de ROS sería producida por el desacople de la cadena de transporte de electrones y por la pérdida de electrones entre los complejos I y II de dicha cadena.

Las ROS son un grupo de moléculas que incluyen tanto radicales de oxígeno –superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ ), peróxido ( $RO_2^{\bullet}$ ) y alcóxido ( $RO^{\bullet}$ )– como no radicales, que son agentes oxidantes o se convierten rápidamente en radicales, como ácido hipocloroso (HOCl), oxígeno singlete ( $^1O_2$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (2). Por otro lado, también hay especies reactivas de nitrógeno (*reactive nitrogen species*, RNS) radicales y no radicales, como el óxido nítrico (NO), el peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) y el dióxido de nitrógeno ( $NO_2^{\bullet}$ ) (3,4).

La agresión oxidativa puede ser definida como un desbalance entre la producción de ROS y la capacidad antioxidante celular que puede dañar células y destruir tejidos (5). Durante los últimos años ha habido un gran número de estudios, los cuales describen el daño oxidativo en pacientes con sepsis, con evidencia de producción de ROS, daño asociado y depleción antioxidante (6). Las enfermedades graves se caracterizan por un estado de hiperinflamación, disfunción inmune celular, daño oxidativo y disfunción oxidativa mitocondrial (7). Un sistema inmune activado y la disfunción mitocondrial son las dos fuentes más potentes de especies reactivas moleculares. Se ha demostrado que la sepsis se caracteriza por un aumento en la producción de ROS y en la de RNS, ambas en la circulación (producidas por las células del sistema inmune y las del sistema endotelial) y en los tejidos (debido a la disfunción mitocondrial y a la modificación del estado antioxidante) (3).

Cuando las defensas antioxidantes se encuentran sobrepasadas sobreviene la agresión oxidativa, que puede causar un importante daño a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, tanto en la mitocondria como en el resto de la célula (5-7). Dentro del daño que se produce a nivel de la mitocondria ocurre la peroxidación de cardiolipina, la cual se encuentra en la membrana mitocondrial interna y es una fuente importante de energía; esto lleva a una disociación del citocromo C, por lo que disminuye la producción de adenosina trifosfato (ATP) y hay mayor generación de ROS (6).

El ADN mitocondrial (mtDNA), que también sufre daños, codifica para varios polipéptidos que son vitales para la cadena de transporte de electrones y la generación de

energía. Además, todo el mtDNA es codificante, por lo tanto, el potencial de mutaciones funcionales es elevado (a diferencia del ADN genómico, que contiene extensas secuencias no codificantes) (6). Otra diferencia con el DNA genómico es que éste está rodeado de histonas, las cuales le proveen cierto grado de protección (8). El daño mediado por agresión oxidativa al mtDNA puede llevar a un ciclo de producción de ROS y mayor daño del mtDNA y, así, perpetuar el ciclo de producción de ROS (6).

Este ciclo de daño del mtDNA con pérdida de la función de la cadena de transporte de electrones y mayor producción de ROS, en el cual los sistemas antioxidantes están sobrepasados, eventualmente lleva a la muerte celular. La membrana mitocondrial interna es impermeable, pero estos casos pueden llevarla a una permeabilidad transitoria, con activación de la cascada de caspasas mediante la liberación del citocromo C y el factor inductor de apoptosis; entonces ocurre la muerte celular programada. La permeabilidad transitoria de la membrana mitocondrial es un punto crítico de la apoptosis (6).

## Objetivos

Los objetivos de este trabajo son determinar si los pacientes sépticos tienen mayores niveles sistémicos de ROS que los controles sanos y si la mortalidad en terapia intensiva se relaciona con dichos niveles de ROS.

## Material y métodos

Se realizó un trabajo prospectivo observacional. El estudio fue aprobado por el Comité de Revisión Institucional del Hospital Británico de Buenos Aires y para su enrolamiento se firmó un consentimiento informado. Los pacientes y los controles fueron enrolados entre 2014 y 2016.

**Criterios de inclusión y exclusión.** Se incluyó a pacientes mayores de 18 años, sépticos, internados en UTI y a pacientes sanos, sin patología previa (grupo de voluntarios sanos). Los voluntarios sanos fueron reclutados en el Hospital Británico, luego de un interrogatorio respecto de patologías previas y la firma del consentimiento informado. Conformaron este grupo pacientes y empleados del hospital. Los pacientes mayores de 80 años o menores de 18, las mujeres embarazadas y aquellos que rechazaron el consentimiento informado fueron excluidos del estudio.

**Diagnóstico de sepsis.** Los criterios utilizados para el diagnóstico de sepsis fueron los clásicos (dos de cuatro criterios de SIRS [síndrome de respuesta inflamatoria

TABLA 1.

SIRS	q-SOFA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cantidad de glóbulos blancos mayor de 12.000 cel/ml, menor de 4000 cel/ml o mayor del 10% de formas inmaduras</li> <li>• Temperatura superior a 38 °C o inferior a 36 °C</li> <li>• Frecuencia cardíaca mayor de 90 latidos por minuto</li> <li>• Frecuencia respiratoria superior a 20 por min o PCO<sub>2</sub> inferior a 32 mm Hg</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frecuencia respiratoria mayor de 22 por minuto</li> <li>• Alteración del estado mental</li> <li>• Presión arterial sistólica inferior a 100 mm Hg</li> </ul>

sistémica, por sus siglas en inglés] y foco infeccioso) (9). Luego de la publicación del consenso Sepsis-3 en 2016, los criterios diagnósticos de sepsis cambiaron a foco infeccioso y dos de tres criterios q-SOFA (abreviatura para *quick SOFA*, sistema de puntuación para la evaluación de las insuficiencias orgánicas relacionadas con la sepsis) (1). Los criterios de SIRS y q-SOFA se expresan en la Tabla 1.

**Extracción de la muestra de sangre.** La muestra se extrajo a través de una vía central. El lugar de colocación de preferencia fue la vena yugular interna; en los casos en que se contraindicó la colocación en dicho sitio, se optó por la vena femoral. La extracción de la muestra se realizó dentro de las 12 horas del ingreso del paciente a terapia intensiva, se centrifugó a 3000 rpm, se le separó el suero e, inmediatamente, se congeló a -75 °C hasta su análisis.

**Cuantificación de ROS sistémicos.** La medición de ROS sistémicos se efectuó mediante la utilización de diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA). Se incubó 12 mcl de suero durante 10 minutos en 1000 mcl de *buffer* TE y se agregó 10 mcl de hidróxido de sodio (NaOH) para escindir el diacetato y, así, activar la diclorofluoresceína (DCFH). La fluorescencia emitida se midió en un equipo Jasco FP770 con un espectro de emisión de entre 500 y 550 nm. Dado que la técnica mide muchos tipos de ROS –entre ellos, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10,11), <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (12) y otros (13)–, no se ha realizado curva de titulación y los valores se expresan en media de emisión de luz a 525 nm.

**Índices de gravedad.** Se realizaron las puntuaciones de SOFA y Apache II en el ingreso a la terapia intensiva a todos los pacientes.

**Variabes fisiológicas.** Al momento de la toma de la muestra de sangre se registró PAFI, dosis de noradrenalina, recuento de glóbulos blancos y nivel de lactato.

**Fallas orgánicas.** Fueron cuantificadas según el índice de SOFA. Se consideró como falla orgánica aquella que suma por lo menos un punto en cada una de las fallas del SOFA.

**Análisis estadístico.** Se utilizó el programa Stata 11.0. En el análisis se realizó la prueba de Mann-Whitney para variables categóricas continuas y se consideró como diferencia estadísticamente significativa una  $p < 0,05$ . Para la correlación entre las variables cuantitativas se efectuó la prueba de Pearson; la correlación se expresó con el cálculo de rho y la respectiva  $p$ , la cual resultó estadísticamente significativa cuando fue menor de 0,05. Rho expresa el grado de correlación entre dos variables cuantitativas: un valor entre 0 y 0,3 es considerado de baja correlación; entre 0,31 y 0,7, de moderada correlación, y mayor de 0,7, de alta correlación (14).

## Resultados

Se incluyó a 55 pacientes sépticos y 24 controles sanos. Las características de la población estudiada se describen en la Tabla 2.

Se encontraron diferencias significativas en el sexo y la edad entre pacientes y controles; en cambio, no hubo diferencias en cuanto a peso, altura e índice de masa corporal (IMC). Entre los pacientes sépticos, el antecedente más común fue el hábito tabáquico (tabaquistas, 19,3%, y ex tabaquistas, 32,84%), seguido de la hipertensión arterial y las patologías oncológicas.

La media de Apache II al ingreso de los pacientes fue de 16,14, cuya mortalidad predicha es de 23,5%, y el SOFA, de 7,29. El foco infeccioso más común fue el abdominal (36,84%), seguido del respiratorio (24,56%) y el urinario (17,54%). No se logró encontrar foco en sólo un paciente, que representó el 1,75%. El total de los focos infecciosos se resume en la Tabla 3.

Los pacientes tuvieron niveles similares de ROS sistémicos comparados con los voluntarios sanos (media = 0,100 ± 0,04 contra media = 0,109 ± 0,032;  $p = 0,36$ ). A su vez, los pacientes que fallecieron en terapia intensiva no presentaron más ROS sistémicos que aquellos

TABLA 2. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Paciente	Paciente	Voluntario sano	$p$
<i>n</i>	55	24	
Sexo (hombre)	63,16%	25%	0,002
Edad	64,75 ± 12,89	48,7 ± 14,82	<0,001
Peso	73,3 ± 15,06	71,75 ± 15,06	0,58
Altura	1,68 ± 0,08	1,64 ± 0,08	0,059
IMC	25,79 ± 4,73	26,6 ± 4,51	0,42

TABLA 3. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS PACIENTES SÉPTICOS

Paciente	Vivo	Muerto	p
<i>n</i>	36	19	
Edad - media (SD)	62,97 ± 14,8	67,73 ± 7,5	0,19
Sexo (masculino)	23	11	0,66
SOFA	6,2 ± 2,6	8,9 ± 3,02	0,002
Apache II	14,2 ± 4,6	19,66 ± 7,05	0,0047
Sitio de infección			0,98
Respiratorio	6	8	
Abdominal	14	6	
Urinario	7	2	
Bacteriemia	2	1	
Otro	7	2	
Comorbilidades			
Hipertensión	17	10	0,7
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	2	2	0,49
Fibrilación auricular	4	4	0,32
Enfermedad oncológica	7	7	0,15
Enfermedad hematológica	5	2	0,72
Diabetes	4	4	0,23
Insuficiencia cardíaca	7	4	0,88
Insuficiencia renal	4	2	0,94
Cirrosis	2	4	0,07

TABLA 4. FALLAS ORGÁNICAS DEFINIDAS SEGÚN SOFA Y NIVELES DE ROS

	<i>n</i>	SÍ Emisión media de DCFH	<i>n</i>	NO Emisión media de DCFH	p
Falla renal	31	0,096 ± 0,04	24	0,105 ± 0,04	0,34
Falla hepática	38	0,096 ± 0,03	17	0,107 ± 0,04	0,46
Falla hemodinámica	25	0,100 ± 0,04	10	0,096 ± 0,04	0,73
Falla neurológica	6	0,101 ± 0,04	49	0,073 ± 0,01	0,3
Falla respiratoria	20	0,076 ± 0,02	35	0,112 ± 0,04	0,0033
Falla hematológica	9	0,074 ± 0,02	46	0,103 ± 0,04	0,07

Los valores expresan la emisión media de DCFH a 525 nm.

que sobrevivieron (media = 0,099 ± 0,03 contra media = 0,103 ± 0,04;  $p = 0,7$ ).

Los niveles de ROS sistémicos en cada falla orgánica se expresan en la Tabla 4. La única falla orgánica con la que hubo diferencias significativas fue la respiratoria: los pacientes con dicha falla tenían menores niveles de ROS sistémicos que aquellos sin ella (0,076 ± 0,02 contra 0,112 ± 0,04;  $p = 0,0033$ ).

Hubo correlación negativa entre los niveles de ROS sistémicos y el índice Apache II ( $\rho = -0,31$ ;  $p = 0,02$ ), así como con el índice SOFA ( $\rho = -0,304$ ;  $p = 0,025$ ). También hubo correlación negativa entre los niveles de ROS sistémicos y la frecuencia cardíaca ( $\rho = -0,581$ ;  $p < 0,001$ ). No hubo

correlación entre los niveles de ROS y glóbulos blancos ( $\rho = 0,002$ ;  $p = 0,98$ ), lactato ( $\rho = -0,002$ ;  $p = 0,98$ ), creatinina ( $\rho = 0,08$ ;  $p = 0,52$ ), bilirrubina total ( $\rho = 0,108$ ;  $p = 0,44$ ), dosis de noradrenalina ( $\rho = -0,17$ ;  $p = 0,19$ ), presión parcial de O<sub>2</sub> ( $\rho = 0,07$ ;  $p = 0,6$ ) y PAFI ( $\rho = 0,181$ ;  $p = 0,21$ ). Tampoco hubo correlación entre los niveles de ROS sistémicos y los días de internación en UTI ( $\rho = 0,003$ ;  $p = 0,98$ ) ni de internación hospitalaria ( $\rho = -0,09$ ;  $p = 0,54$ ).

## Discusión

En este trabajo se ha observado que los pacientes sépticos no tienen mayores niveles de ROS sistémicos que los controles sanos, medidos con DCFH. También se ha determinado que no hay diferencias entre los pacientes que no sobreviven a la internación en UTI y aquellos que sobreviven. Por otro lado, se ha analizado que no hay discrepancia en los niveles de ROS sistémicos de los pacientes que tienen distintas fallas orgánicas y aquellos que no las tienen (salvo en la falla respiratoria, en la cual se encuentran disminuidos). Una posible explicación es que estos pacientes, al tener una menor disponibilidad de oxígeno tisular, producirían menos ROS a nivel mitocondrial, pero hacen falta más estudios dirigidos a analizar esto. También se ha observado que hay correlación negativa con los índices de gravedad.

El tamaño de la muestra no permite hacer un análisis más profundo de los niveles de ROS en las distintas fallas orgánicas. Deberían hacerse otros estudios para aumentar la cantidad de pacientes incluidos y, así, lograr realizar un análisis exhaustivo que relacione los niveles de ROS y cada falla orgánica.

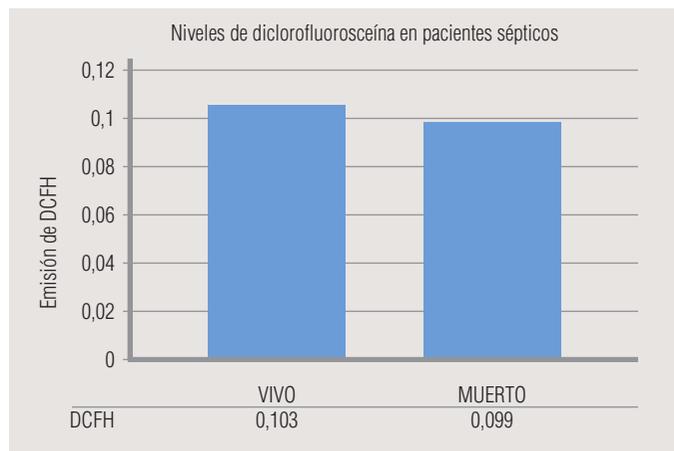
En diversos estudios en los que se analiza el rol de los ROS en la sepsis, la medición de los niveles de estas moléculas es siempre en tejido; la metodología utilizada sólo requiere muestras de sangre, y no de biopsia, por lo que sería una posible práctica cotidiana en la UTI.

En distintos trabajos con modelos animales de sepsis se ha demostrado la presencia de ROS en tejidos. Un estudio midió el nivel de sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid reactive substances*, TBARS) y la producción del radical superóxido, los cuales se encontraban aumentados en el hígado de ratas sépticas (15). En el mismo trabajo se observó que la producción de ROS precedía a la necrosis (15).

Otro estudio (16) midió TBARS y actividad antioxidante con catalasa, superóxido dismutasa y mieloperoxidasa en riñones y pulmones de ratas sépticas y encontró correlación entre los marcadores de agresión oxidativa y los de daño tisular (16). No sólo se observó el aumento de la peroxidación lipídica en el hígado de ratas sépti-



**Figura 1.** Niveles de emisión media de diclorofluorosceína en pacientes y voluntarios sanos. Los valores expresan la emisión media de DCFH a 525 nm. No hubo diferencias significativas ( $p = 0,36$ ).



**Figura 2.** Niveles de emisión media de diclorofluorosceína en pacientes sépticos que sobrevivieron en UTI y en aquellos que murieron. Los valores expresan la emisión media de DCFH a 525 nm. No hubo diferencias significativas ( $p = 0,7$ ).

cas, sino también en el de aquellas a las que se infundió lipopolisacárido (17).

Desde los años noventa se estudia el rol del daño oxidativo en pacientes críticos. En estos trabajos se han usado distintas técnicas para medir en sangre daño oxidativo (18-26), capacidad antioxidante (21-31), niveles de antioxidantes (20,22,24,25,29,32) o actividad enzimática relacionada con la defensa ante el daño oxidativo (18,24-26,32), con resultados dispares.

En los trabajos que midieron daño oxidativo, la técnica más usada fue la de TBARS y los resultados obtenidos fueron disímiles; incluso hubo estudios en los que no se encontraron diferencias en los niveles entre pacientes que sobreviven a la internación y aquellos que no sobreviven (18,23,24). Tampoco se hallaron diferencias entre pacientes sépticos con SIRS y sin SIRS, aunque sí hubo divergencia en los niveles de los pacientes con SIRS de origen séptico y los de origen no séptico (19). En cambio, si se usa la técnica de malondialdehído, los pacientes sépticos que no sobreviven tienen mayores niveles de daño oxidativo (21).

Asimismo, al medir la capacidad del suero de pacientes sépticos para producir ROS en la línea celular HUVEC (sigla para *human umbilical vein endothelial cells*) se observó que los pacientes producían más ROS que los controles y, a su vez, que los pacientes que no sobrevivían producían más ROS que los que sobrevivían mediante la técnica de medición de DCFH (20). De la misma manera que con el daño oxidativo, la capacidad antioxidante tiene resulta-

dos heterogéneos: hay trabajos en los cuales está aumentada en los pacientes que no sobreviven (27), otros en los que disminuye (23) y, finalmente, otros en los que no hay cambios (24,29). Cabe destacar que, en estos estudios, la técnica de medición y los reactivos no fueron los mismos. Este trabajo es novedoso porque mide ROS en suero en pacientes sépticos. El uso de DCFH es una técnica ya descrita para la medición de ROS, principalmente a nivel intracelular (33-35,13), ya que el fluoróforo (diacetato de diclorofluoresceína, DFCH-DA) debe ser clivado para emitir señal a 525 nm. El clivaje del diacetato ocurre dentro de las células en presencia de esterasas. La técnica también fue descrita para la medición de ROS en fluidos extracelulares.

El método varía en que la incubación se realiza con NaOH para el clivaje y sin la necesidad de esterasas. Esta técnica también ha sido descrita en la literatura (10-13). En nuestro laboratorio se ha medido con éxito en ratas sépticas, y observamos que las ratas sépticas (por medio de punción cecal) tienen mayores niveles de ROS en suero que las ratas control (datos no publicados). La diferencia con la técnica de TBARS radica en que esta mide peroxidación lipídica (36), mientras que la técnica de DCFH mide, directamente, ROS, entre ellos  $H_2O_2$  (11,10),  $^1O_2$  (12), y otros (13).

Es interesante observar las diferencias en los niveles de ROS de ratas sépticas de otros trabajos y los pacientes sépticos del trabajo actual, ya que en este no se encuentra divergencia entre los controles y, en las ratas,

sí. De la misma manera pasa con resultados dispares en trabajos con pacientes críticos previos. Este contraste puede radicar en que a los pacientes se les mide ROS al ingreso en UTI, luego de la reanimación en guardia, con la colocación de una vía central y vasopresores, a diferencia de las ratas, cuya muestra se toma séptica y sin reanimación, antibióticos ni remoción de foco. Los ROS tienen vida media muy corta, y esa podría ser la causa de la diferencia en el modelo animal y los niveles en los pacientes que ingresan a UTI. Sería interesante realizar

estudios en pacientes al ingreso de la guardia, antes de la reanimación.

## Conclusiones

Al ingreso en UTI, los pacientes sépticos no tenían mayores niveles de ROS en sangre que los controles sanos, y los pacientes que no sobrevivieron no tenían mayores niveles de ROS en sangre que aquellos que sobrevivieron. [RAM](#)

## Referencias bibliográficas

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama* 2016;315(8):801-10
- Russell EG, Cotter TG. New insight into the role of reactive oxygen species (ROS) in cellular signal-transduction processes. *Int Rev Cell Mol Biol* 2015;319:221-54
- Andrades MÉ, Morina A, Spasić S, et al. Bench-to-bedside review: sepsis —from the redox point of view. *Crit Care* 2011;15(5):230
- Berg RM, Møller K, Bailey DM. Neuro-oxidative-nitrosative stress in sepsis. *J Cereb Blood Flow Metab* 2011;31(7):1532-44
- Preiser JC. Oxidative stress. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012;36(2):147-54
- Galley HF. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *Br J Anaesth* 2011;107(1):57-64
- Heyland DK, Dhaliwal R, Suchner U, et al. Antioxidant nutrients: a systematic review of trace elements and vitamins in the critically ill patient. *Intensive Care Med* 2005;31(3):327-37
- Gebicki JM. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. *Arch Biochem Biophys* 2016;595:33-9
- Klein Klouwenberg PM, Ong DS, Bonten MJ, et al. Classification of sepsis, severe sepsis and septic shock: the impact of minor variations in data capture and definition of SIRS criteria. *Intensive Care Med* 2012;38(5):811-9
- Valkonen M, Kuusi T. Spectrophotometric assay for total peroxyl radical-trapping antioxidant potential in human serum. *J Lipid Res* 1997;38(4):823-33
- Szychowski KA, Rybczyńska-Tkaczyk K, Leja ML, et al. Tetrabromobisphenol A (TBBPA)-stimulated reactive oxygen species (ROS) production in cell-free model using the 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA) assay — limitations of method. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016;23(12):12246-52
- Olivier D, Douillard S, Lhommeau I, et al. Secondary oxidants in human serum exposed to singlet oxygen: the influence of hemolysis. *Photochem Photobiol Sci* 2009;8(10):1476-86
- Tetz LM, Kamau PW, Cheng AA, et al. Troubleshooting the dichlorofluorescein assay to avoid in measurement of toxicant-stimulated cellular production of reactive oxygen species. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2013;67(2):56-60
- Bali J, Kant A. *Basics of biostatistics: a manual for medical practitioners*. 1st ed. New Delhi, Philadelphia; Jaypee, The Health Sciences Publisher: 2017
- Zapelini PH, Rezin GT, Cardoso MR, et al. Antioxidant treatment reverses mitochondrial dysfunction in a sepsis animal model. *Mitochondrion* 2008;8(3):211-8
- Andrades M, Ritter C, de Oliveira MR, et al. Antioxidant treatment reverses organ failure in rat model of sepsis: role of antioxidant enzymes imbalance, neutrophil infiltration, and oxidative stress. *J Surg Res* 2011;167(2):e307-13
- Lowe DA, Webster NR, Murphy MP, et al. Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. *Br J Anaesth* 2013;110(3):472-80
- Guerreiro MO, Petronilho F, Andrades M, et al. Plasma superoxide dismutase activity and mortality in septic patients [corrected]. *J Trauma* 2010;69(6):E102-6
- Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, et al. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2003;31(4):1048-52
- Huet O, Obata R, Aubron C, et al. Plasma-induced endothelial oxidative stress is related to the severity of septic shock. *Crit Care Med* 2007;35(3):821-6
- Lorente L, Martín MM, Almeida T, et al. Association between serum total antioxidant capacity and mortality in severe septic patients. *J Crit Care* 2015;30(1):217.e7-12

22. Abilés J, de la Cruz AP, Castaño J, et al. Oxidative stress is increased in critically ill patients according to antioxidant vitamins intake, independent of severity: a cohort study. *Crit Care* 2006;10(5):R146
23. Dasgupta A, Malhotra D, Levy H, et al. Decreased total antioxidant capacity but normal lipid hydroperoxide concentrations in sera of critically ill patients. *Life Sci* 1997;60(4-5):335-40
24. Karapetsa M, Pitsika M, Goutzourelas N, et al. Oxidative status in ICU patients with septic shock. *Food Chem Toxicol* 2013;61:106-11
25. Cheng CH, Huang SC, Chiang TY, et al. Higher plasma pyridoxal phosphate is associated with increased antioxidant enzyme activities in critically ill surgical patients. *Biomed Res Int* 2013;2013:572081
26. Alonso de Vega JM, Díaz J, Serrano E, et al. Oxidative stress in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2002;30(8):1782-6
27. Pascual C, Karzai W, Meier-Hellmann A, et al. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Crit Care Med* 1998;26(4):705-9
28. Cowley HC, Bacon PJ, Goode HF, et al. Plasma antioxidant potential in severe sepsis: a comparison of survivors and nonsurvivors. *Crit Care Med* 1996;24(7):1179-83
29. Doise JM, Aho LS, Quenot JP, et al. Plasma antioxidant status in septic critically ill patients: a decrease over time. *Fundam Clin Pharmacol* 2008;22(2):203-9
30. Chuang CC, Shiesh SC, Chi CH, et al. Serum total antioxidant capacity reflects severity of illness in patients with severe sepsis. *Crit Care* 2006;10(1):R36
31. MacKinnon KL, Molnar Z, Lowe D, et al. Measures of total free radical activity in critically ill patients. *Clin Biochem* 1999;32(4):263-8
32. Flåring UB, Rooyackers OE, Hebert C, et al. Temporal changes in whole-blood and plasma glutathione in ICU patients with multiple organ failure. *Intensive Care Med* 2005;31(8):1072-8
33. Tournebize J, Sapin-Minet A, Bartosz G, et al. Pitfalls of assays devoted to evaluation of oxidative stress induced by inorganic nanoparticles. *Talanta* 2013;116:753-63
34. Kuznetsov AV, Kehrler I, Kozlov AV, et al. Mitochondrial ROS production under cellular stress: comparison of different detection methods. *Anal Bioanal Chem* 2011;400(8):2383-90
35. Tominaga H, Katoh H, Odagiri K, et al. Different effects of palmitoyl-L-carnitine and palmitoyl-CoA on mitochondrial function in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Hear Circ Physiol* 2008;295(1):H105-12
36. Garcia YJ, Rodriguez-Malaver AJ, Peñaloza N. Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. *J Neurosci Methods* 2005;144(1):127-35