

Inhibición de la síntesis del óxido nítrico. Papel en la sobrevida y hemodinamia de un modelo experimental de peritonitis fecal

Myr. José Antonio Arzate-Villafañá,* Myr. Guadalupe Cleva Villanueva López**

Escuela Militar de Graduados de Sanidad y Escuela Médico Militar. Ciudad de México

RESUMEN. El presente estudio se realizó con el objetivo de establecer la diferencia en la sobrevida, presión arterial, presión venosa central, frecuencia cardíaca y niveles plasmáticos de nitritos en un modelo animal experimental de peritonitis fecal con la utilización de un inhibidor selectivo de la síntesis de óxido nítrico. Es un modelo experimental en ratas, prospectivo, controlado, aleatorio y con grupo control. Los resultados fueron sometidos al análisis estadístico de T de Student no pareada y de varianza variable. Como resultado, se encontró un aumento significativo en la sobrevida en el grupo de estudio y presión arterial relacionado con niveles plasmáticos más bajos de nitritos en el grupo de estudio en relación al control, sin encontrar cambios significativos en la presión venosa central ni en la frecuencia cardíaca.

Palabras clave: óxido nítrico, peritonitis.

La sepsis continúa siendo la primera causa de muerte en las unidades de Terapia Intensiva no coronarias.¹ Definición. En 1991, el American College of Chest Physicians y la Society of Critical Care Medicine, durante la realización de una conferencia consenso celebrado en la Ciudad de Chicago se proponen las siguientes definiciones para unificar los criterios conceptuales y de manejo en relación a la sepsis.⁸

Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica: Se define como el proceso inflamatorio en respuesta a un daño, independientemente de la causa, cuyas manifestaciones clínicas incluyen por lo menos tres, pero no se limitan a los siguientes parámetros: Temperatura corporal superior a los 38 grados centígrados o menor a los 36 grados centígrados; Frecuencia respiratoria superior a las 20 ventilaciones por minuto o una paCO_2 inferior a 30 uT ; leucocito-

SUMMARY. This paper was carried out in order to determine the role of nitric oxide inhibition about the survival, of blood pressure, venous pressure, heart rate, and level of nitric oxide in plasm after fecal peritonitis, related to survival of experimental animals. The study was prospective, randomized and with a control group. Animals were Windstar mice. Procedures were performed in the Medical Military School'S Multidisciplinary Laboratory in Mexico City. Statistic analysis: Student's t. Results: we found more survival in study group than control group. In the same way the study group showed an increased with statistic significance in it's blood pressure with lower plasmatic concentration of nitric oxide than control group. We couldn't demonstrate a statistical difference in its heart rate and venous pressure.

Key words: nitric oxid, peritonitis.

sis de más de 12000 o leucopenia menor de 4000 leucocitos/ml o bien la presencia de bandas en más del 10%.⁸

Cuando el síndrome de respuesta inflamatoria se debe a una infección documentada, es entonces cuando este proceso se denomina sepsis. Se conoce como sepsis severa, aquella que se encuentra asociada a disfunción orgánica, con hipoperfusión anormal o hipotensión relacionada a sepsis, siendo el shock séptico aquella sepsis severa que a pesar del correcto manejo con líquidos, no corrige los datos de hipoperfusión y que se encuentra asociado pero no de manera exclusiva a acidosis metabólica láctica, oliguria y alteración del estado de conciencia.^{41,42} Por lo anterior, se puede deducir que la sepsis severa y el estado de shock séptico constituyen un proceso sistémico que se acompaña de disfunción orgánica en relación a la interacción de microorganismos bacterianos y/o sus productos con las células del huésped, pero de manera paradójica, cuando el organismo hospedero sucumbe a los efectos de una infección bacteriana aguda, es el mismo, quien inicia los mecanismos de su propia muerte.¹

Tanto la sepsis severa como el shock séptico, son enfermedades sistémicas severas, caracterizadas por alteraciones hemodinámicas importantes, que de ninguna forma

* Residente de Segundo Año del Curso de Residencia y Especialidad en Medicina Crítica y Terapia Intensiva de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad.

** Jefe del Laboratorio Multidisciplinario de Investigación de la Escuela Médico Militar y Profesor Titular de la cátedra de Farmacología de la Escuela Médico Militar, México.

son de aparición reciente o constituyen una entidad patológica nueva, pero que sin embargo su incidencia y su severidad van en incremento.^{11,45} Dentro de la terapéutica moderna, el uso de antibióticos cada vez más potentes, ha ocasionado una selección de bacterias cada día más resistentes. Aún más, con el advenimiento de las técnicas invasivas de monitorización y terapéutica médica, así como la terapia inmunosupresora, se ha contribuido de manera importante al desarrollo del síndrome de repuesta inflamatoria sistémica relacionado a sepsis.

La búsqueda de un mediador plasmático en la sepsis data del siglo XIX,³ cuando las infecciones asociaban a la presencia de toxinas generadas por la bacterias. En 1892 Richard Pfeiffer, un alumno del Dr. Robert Koch, demostró que al añadir una proteína termolábil el gram negativo (*Vibrio cholerae*), producía otra toxina termo estable la cual fue denominada «endotoxina» indicando una correlación estrecha con la bacteria misma. De manera simultánea, Eugenio Centanni, describió un producto similar al cual denominó «pirotoxina», sucediéndose vertiginosamente, una serie de descubrimientos hasta que por fin en 1943, Murray J. y sus colegas en el Instituto Nacional del Cáncer, identificaron y purificaron un componente activo de la *S. marcescens*, determinando que este componente se encontraba constituido por un lípido y un polisacárido, por lo que fue denominado «lipolisacárido» (LPS). Posteriormente la purificación final, del LPS, se llevó a cabo a finales de la década de los 40's por Otto Westphal y Otto Lüderitz en el Wander Researche Institut en Säckigen Alemania, determinándose finalmente que el lipopolisacárido en cuestión era un componente de la membrana externa de las bacterias gram negativas.

Tanto las bacterias gram negativas, como las bacterias gram positivas son capaces de desencadenar un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y por lo tanto shock séptico. Sin embargo la mayor virulencia se encuentra relacionada con los microorganismos gram negativos y sus lipopolisacáridos. En la sangre, estos polisacáridos forman un complejo, con una proteína denominada proteína fijadora de lipopolisacáridos (LBP). Este complejo en el sistema inmune provoca una activación de los monocitos y un aumento significativo de la sensibilidad de los macrófagos al reconocimiento de estos complejos, en lo que se tiene identificado como un mecanismo de superficie específico. Los efectos locales de respuesta a la presencia de estos complejos, incluyen el establecimiento de quimiotaxis y liberación de productos de inflamación. Las fosfolipasas producidas y liberadas por los macrófagos, degradan los fosfolípidos de las membranas celulares e incrementan la disponibilidad local de los productos del ácido araquidónico y otros lípidos similares que llevan a los leucocitos y otras células a producir prostaglandinas, leucotrienos y citoquinas, potentes mediadores de cambios vasomotores locales.

La cascada inmunológica que convierte una reacción local en una respuesta sistémica puede ser desatada por dos caminos: Primero por la reacción específica mediada

por anticuerpos dirigidos contra antígenos específicos: Y segundo, de una manera inespecífica por medio de reactivantes inflamatorios que actúan como hormonas, provocando cambios funcionales en tejidos distantes, por mediación del sistema alterno del complemento que entra en interacción con antígenos bacterianos inespecíficos.¹

La generación de citoquinas y el proceso inflamatorio en sí, en condiciones de salud, se encuentran fuertemente controlados por varios mecanismos homeostáticos reguladores, de tal forma, que cuando fracasan estos mecanismos reguladores, el shock séptico hace su aparición y en muchas de estas ocasiones no se conoce la causa desencadenante.

Este desequilibrio en los mecanismos de defensa, predispone a la sepsis sobre todo en aquellos pacientes quienes previamente presentan, trauma, enfermedades neoplásicas, cirrosis, diabetes, o en la que por alguna razón su sistema inmunocompetente se encuentra comprometido.

Óxido nítrico

A principios de 1980 en modelos experimentales por los científicos Furchgott y Zawadzky probaron que la relajación de músculo liso por acetilcolina, dependía de la integridad del endotelio vascular por la mediación de una substancia, que recibiría el nombre de «Factor relajante del músculo liso dependiente del endotelio» (FRDE). Posterior a muchos experimentos, el mismo Furchgott fue quien demostrara, la naturaleza del FRDE detectándolo en la superficie de la capa íntima del vaso. Hacia 1985 se pensó que el óxido nítrico y el FRDE pudieran tratarse de una misma molécula y no fue sino hasta 1990 en que se sugirió que el FRDE, pudiera ser un compuesto nitroso inestable como el S-nitroso-cisteína basado en la comparación del potencial vasodilatador del óxido nítrico sobre los lechos vasculares.^{2,3}

El óxido nítrico es un mediador general entre la comunicación de célula a célula.³ Este mediador proporciona una influencia vasodilatadora continua, modificando la función de las células circulantes, además de actuar como un neurotransmisor.^{24,6,7} El incremento de esta sustancia en el endotelio vascular en el estado de shock séptico, pudiera estar relacionada con los cambios hemodinámicos observados en el paciente en estado de sepsis severa, incluyendo la vasodilatación periférica y sobre todo en los cortos circuitos arteriovenosos que se observan en estados avanzados del shock séptico, lo cual abrió una ruta de investigación nueva presentándose como una promesa en el correcto entendimiento de la fisiopatología de shock séptico.

El óxido nítrico, (NO) se trata de un complejo simple sumamente inestable, capaz de atravesar las membranas con gran facilidad, con una vida media promedio de 3 a 50 segundos, la cual se encuentra en relación de las variaciones experimentales de tensión de O₂, repercutiendo directamente con la disponibilidad del anión superóxido.² El óxido nítrico puede ser sintetizado en la pared de los vasos sanguíneos por diferentes sintetasas. Una de las isoformas

de estas sintetetasas, la sintetasa endotelial, contribuye a la regulación del tono vascular y puede prevenir la activación de leucocitos o bien la agregación plaquetaria en la superficie endotelial. La liberación del óxido nítrico por la sintetasa endotelial, se encuentra exquisitamente regulada por un incremento de calcio libre intracelular,² seguidos de la activación de receptores endoteliales, por stress, neuromedadores, hormonas y productos plaquetarios. Por otra parte, la liberación transitoria de óxido nítrico, difunde en el músculo liso subyacente y contribuye a los cambios de tono vascular en respuesta a los cambios locales en la demanda de flujo sanguíneo. De tal forma que la liberación de óxido nítrico depende de la disponibilidad que exista de la enzima sintetasa y sus cofactores. Se ha demostrado que la arginina actúa como donador del NO en su formación.³⁶ Otra isoforma de la sintetasa del óxido nítrico insensible a los cambios de calcio intracelular, puede ser inducida seguida a la exposición de citoquinas o bajo algunos estados patológicos tales como la sepsis, respuesta inflamatoria sistémica, o posterior a una lesión vascular. Existe evidencia que esta sintetasa inducible puede compensar la disfunción de su isómero endotelial, después de daño vascular como el que sucede después de una angioplastia, sin embargo una producción de dicha enzima de manera descontrolada puede tener consecuencias deletéreas tal como se observa en el shock séptico.⁷

Patrones hemodinámicos de la sepsis

Los eventos más sobresalientes en la sepsis severa y en el shock séptico son: Disminución de las resistencias vasculares periféricas, por vasodilatación, disminución del volumen del líquido intravascular efectivo y un aumento inicial del gasto cardíaco.

Existe un efecto adicional aún no perfectamente definido y que constituye la depresión de la función contráctil miocárdica.

En la sepsis temprana y en presencia de un corazón por otra parte sano, el gasto cardíaco aumenta y la presión arterial finalmente se mantiene, pero se aprecia un aumento significativo de la presión de pulso, presentándose de esta forma un estado hiperdinámico.

Paradójicamente en las etapas iniciales del shock séptico, donde cabría esperar una disminución de la presión venosa central, existe en realidad un aumento de la misma y esto como consecuencia del aumento en el gasto cardíaco a expensas de aumento del trabajo del ventrículo izquierdo y por ende un aumento en el retorno venoso al atrio derecho.

La hipotensión se presenta cuando el retorno venoso se encuentra extremadamente comprometido por el aumento excesivo de la capacitancia vascular, la pérdida de volumen circulante o por una inadecuada reserva miocárdica.^{1,2}

Aun en los estados iniciales del estado de shock séptico, es ahora bien conocido que la depresión miocárdica contribuye, en alguna medida, a la incapacidad de mantener la presión arterial, sin embargo en estas etapas iniciales y de-

bido a que generalmente el gasto cardíaco, se encuentra elevado, la depresión miocárdica no reviste un problema realmente importante.¹

En las etapas tardías de la sepsis, la depresión miocárdica se ve acentuada, disminuyendo eventualmente el gasto cardíaco a niveles normales o subnormales y desembocando en todo caso a hipotensión refractaria al manejo con la subsecuente disminución en la disponibilidad de oxígeno a diversos órganos, daño anóxico-isquémico y muerte.

A pesar de contar con la evidencia clínica de una presión arterial normal o aceptable, así como de un gasto cardíaco incluso supranormal, hay abundante evidencia de que existe una distribución anormal del flujo sanguíneo y por consiguiente un balance anormal entre la demanda y la disponibilidad de oxígeno en los tejidos. Por otra parte existe una teoría alternativa en la cual se habla de un bloqueo metabólico, en el cual, a pesar de tener una correcta disponibilidad de metabolitos, la célula se encuentra incapacitada para efectuar sus funciones,¹ en todo caso las resistencias vasculares periféricas no son una medida muy confiable para evaluar la gravedad del paciente, ya solamente representa un grado de flujo sanguíneo mas no objetiviza su distribución.⁷

En el Hospital Central Militar, en el departamento de medicina crítica y específicamente en la unidad de terapia intensiva de adultos, se cuenta con un gran porcentaje de pacientes que en la evolución de su padecimiento de base, desarrollan el estado de shock séptico, teniendo como primeras causales la peritonitis séptica, ocupando en las estadísticas de morbilidad una de las primeras causas de admisión y la segunda causa de muerte por shock séptico, estimándose un costo día cama aproximado de \$10,500 pesos mexicanos. Por tal motivo debe considerarse como un serio problema de salud en nuestro medio, el cual como un hecho de observación, se desarrolla en muchas ocasiones en relación a contaminación de la cavidad con materia fecal, como resultado de perforación de vísceras en trauma cerrado y/o abierto como los que se presentan en explosiones y heridas por arma de fuego en el desarrollo de actividades

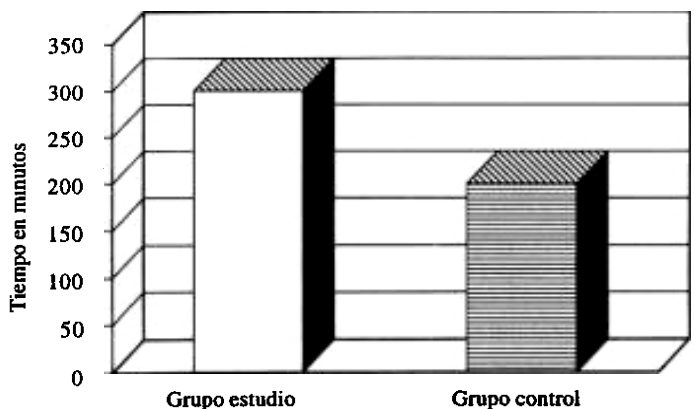


Figura 1. Sobrevida en minutos posterior al reto en ambos grupos.

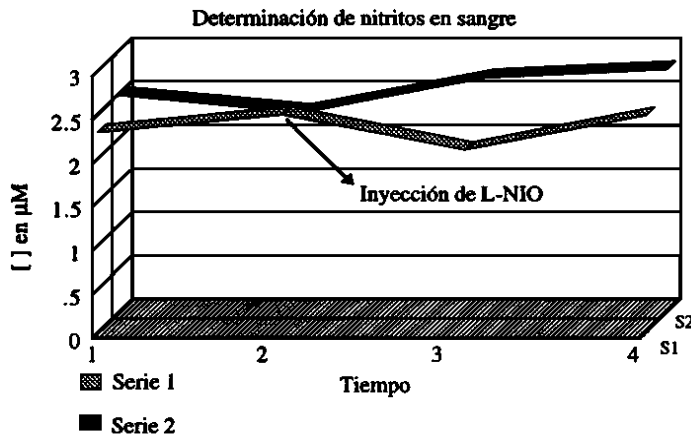


Figura 2. Relación de la concentración de nitritos plasmáticos en ambos grupos.

castrenses o bien en actividades de la vida cotidiana como es violencia en las calles y accidentes automovilísticos.

En relación al manejo de este problema se han realizado estudios en los cuales existe evidencia indirecta de aumento en la sobrevida en modelos experimentales de shock séptico con la utilización de inhibidores de la síntesis de NO, sin embargo existe poca evidencia objetiva que estos inhibidores realmente actúan modulando o inhibiendo dicho mediador y por lo tanto su aplicación en humanos aún no ha podido superar la fase experimental.

¿Existirá un aumento en la sobrevida y se presentarán cambios hemodinámicos en modelos animales experimentales con sepsis peritoneal, en relación a la modulación o a la inhibición de la síntesis de NO?

Material y métodos

Para el experimento propiamente dicho, se utilizaron 46 ratas Wistar, con un peso promedio de 200 a 300 gramos. Todas las ratas fueron ambientadas al laboratorio por lo menos durante 48 horas antes del inicio de cada fase experimental, recibiendo la misma clase de alimento y agua.

Se formaron dos grupos de ratas a saber, A y B que correspondieron al grupo control y al grupo de estudio respectivamente, en cada fase experimental se utilizaron dos ratas a la vez, una del grupo A y otra del grupo B designando la pertenencia de cada grupo al azar. Sin tomar en cuenta el sexo ni la edad del animal, ambos grupos: Fueron anestesiados, utilizando para tal pentobarbital sódico (Anestasal SB), con una concentración de 0.063g por mililitro, inyectándose una dosis intraperitoneal de 94.5 mg/ 5 kg de peso aforados a .5 cc.

Previa instilación de lidocaína al 2% y mediante disección roma del cuello de la rata, se realizó traqueostomía para manejo e higiene de la vía aérea, cateterizándose la arteria carótida izquierda para medición de la presión arterial sistémica, la vena yugular interna derecha para medición de la presión venosa central, así mismo se disecó y cateterizó la arteria femoral derecha para la toma de muestras.

Una vez cateterizadas y traqueostomizadas, cada rata, fue montado en un polígrafo Grass Modelo 79 E de la Quincy Mass U.S.A. company, en donde fueron registra-

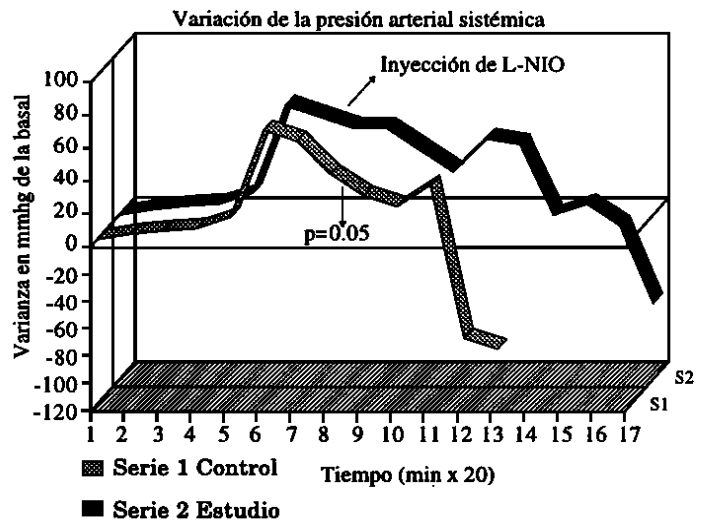


Figura 3. Comparación en la varianza en la presión arterial sistémica.

dos de manera continua los parámetros hemodinámicos incluidos en este estudio, manteniendo la temperatura ambiental sin variaciones a 27 grados celsius.

Posterior a 10 minutos de haber montado el modelo, se tomó la primera muestra sanguínea de cada rata de 0.5 ml denominada muestra 0, para la determinación inicial de nitritos en plasma, reponiendo el volumen extraído con 1.5 ml de solución Hartman. Cuando la rata nuevamente estabilizaba tanto la presión arterial sistémica como la venosa central y el pulso, se inyectó mediante una incisión supraumbilical un liofilizado de su propia materia fecal, la cual fue colectada antes del experimento, a una dosis de 5 g/kg de peso aforados a un volumen de 3 a 3.5 ml, para de manera inmediata cerrar el peritoneo y pared abdominal con seda 000. Este procedimiento de inóculo peritoneal fue denominado reto

Las muestras sanguíneas subsecuentes todas de 0.5 ml, fueron obtenidas de ambos grupos, a las 2, 4, y 6 horas posteriores al reto, reponiéndose siempre el volumen con 1.5 ml de solución Hartman por la misma vía. Cuando la rata fallecía en el periodo intermedio entre las horas predeterminadas se tomaba una muestra inmediata *premortem*.

El grupo control se dejó a libre evolución. Mientras que al grupo experimental, a partir de la segunda hora posterior al reto e inmediatamente posterior a la segunda toma de muestra sanguínea se le administró una dosis única de L-NIO de 8 mg/kg de peso aforados a 200 µL con solución salina isotónica y administrados de manera subcutánea.

Cuadro 1. Sobrevida por cada animal de experimentación y por grupo.

Control	Sobrevida	Estudio	Sobrevida
Rata 1	287	Rata 1	286
Rata 2	253	Rata 2	380
Rata 3	200	Rata 3	360
Rata 4	140	Rata 4	240
Rata 5	240		
Promedio	224	Promedio	316.5
Desv. est.	56.3427014	Desv. est.	65.0819996
E. est.	25.1972221	E. est.	29.105555

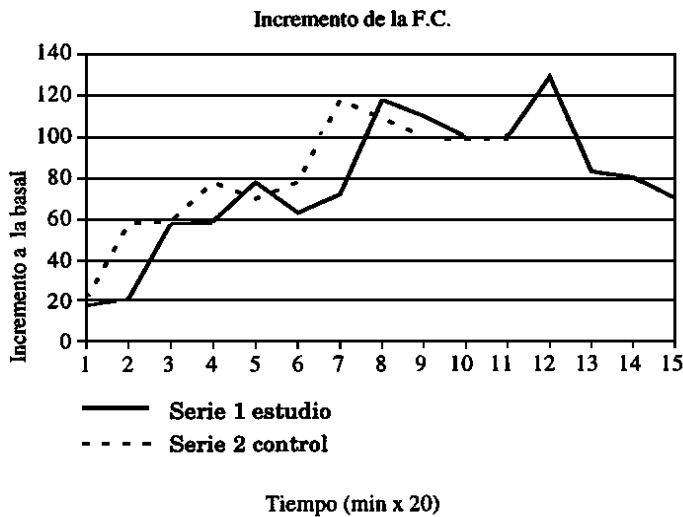


Figura 4. Varianza de la frecuencia cardiaca.

Para la toma de las muestras sanguíneas fueron utilizadas jeringas heparinizadas, posteriormente la sangre fue sometida a centrifugación a 14000 rpm, para extraer el plasma, el cual fue sometido a refrigeración a -20 grados celsius en tanto se hacían las determinaciones de óxido en el laboratorio multidisciplinario de la Escuela Médico Militar, mediante la técnica de determinación de nitritos previa desproteinización de la muestra con ácido argéntico y con la utilización del reactivo de Griess. Tanto las jeringas como los tubos para centrifugación y refrigeración, se lavaron a satisfacción con solución salina al 0.9% para evitar determinar nitritos existentes previamente en los recipientes.

Una vez que la rata hubo fallecido, o en el periodo agónico, se extrajeron los siguientes órganos: Corazón, hígado, bazo, íleon terminal y pulmón, siendo preservados en congelación a 79 grados centígrados en tanto se realizan las mediciones de los rangos de actividad de sintetasa inducible de NO. Dichos órganos se enviarán a la Universidad de Alberta en Canadá.

Los criterios de recuperación hemodinámica considerados para este trabajo fueron:

1. Sobrevida posterior al reto.(expresada en minutos)
2. Niveles plasmáticos de nitritos. (expresados en μM)

Cuadro 2. Concentraciones plasmáticas de nitritos en el grupo control en las diferentes tomas sanguíneas, expresadas en micromoles.

	Basal	Primera	Segunda	Tercera
Rata 1	2.65	2.79	2.79	
Rata 2	2.92	2.65	2.52	2.79
Rata 3	2.38	2.24	2.65	
Rata 4	2.24	2.38		
Rata 5	2.38	2.38	2.92	
Promedios	2.514	2.488	2.72	2.79
Des. est.	0.27125634	0.22487774	0.17301252	1
E. est.	0.12130952	0.10056838	0.08650626	1

3. Presión arterial sistémica.(expresada en varianza)
4. Presión venosa central. (expresada en valores absolutos)
5. Frecuencia cardiaca. (expresada en varianza)

Los parámetros hemodinámicos tales como TA; PVC; FC fueron registrados de manera continua durante toda la sobrevida del animal. Se excluyeron todos aquellos animales cuya muerte fuera imputada a alguna causa distinta a la sepsis intraperitoneal, tal como, shock hemorrágico o sobredosis de anestesia.

Los resultados obtenidos de los parámetros de mejoría considerados en este trabajo fueron sometidos a análisis estadístico mediante la prueba de la *t* no pareada y de varianza variable,⁵⁰ con la determinación de medias, desviación estándar y error estándar, mediante el Software Microsoft Excel para Windows 95 versión 7.0a

Resultados

De las 46 ratas, 36 fueron excluidas por muerte no imputable a la sepsis, 20 fueron por sobredosificación de anestesia y 16 a consecuencia de shock hemorrágico

El grupo A o de control se constituyó de 5 ratas.

El grupo B o experimental o de estudio constó de 4 ratas.

La sobrevida de ambos grupos fue expresada en minutos posteriores al reto presentándose de la forma siguiente:

Grupo control. Se promedió la sobrevida en minutos, de las cinco ratas posterior al reto arrojando una cifra de 224 minutos con una desviación estándar de 56.34 y con un error estándar de 25.197.

Grupo estudio. En este grupo se presentó una sobrevida promedio de 316 minutos con una desviación estándar de 65.082 con un error estándar de 29.5, arrojando una $p = 0.040$ (Figura 1 y Cuadro 1).

La concentración de nitritos en sangre fue menor en el grupo de estudio tratado con L-NIO, en relación al grupo control. La diferencia se hizo significativa posterior a los primeros 20 minutos de la aplicación del inhibidor de la síntesis de óxido nítrico (140 minutos posterior al reto), como se demuestra en la figura 2 y cuadro 2.

El promedio de la concentración de nitritos en plasma previa a la inyección del L-NIO, para el grupo control fue de 2.501 μM con una desviación estándar de 0.23, mientras que para el grupo de estudio se presentaron valores de

Cuadro 3. Concentración plasmática de nitritos en el grupo de estudio.

	Basal	Primera	Segunda	Tercera
Rata 1	2.24	2.52	2.24	2.52
Rata 2	2.52	2.79	2.79	2.65
Rata 3	1.97	2.52	2.38	2.92
Rata 4	2.39	2.79	2.38	
Promedios	2.28	2.655	2.4475	2.69666667
Des. est.	0.23622024	0.15588457	0.23767976	0.20404248
E. est.	0.11811012	0.07794229	0.11883988	0.11780398

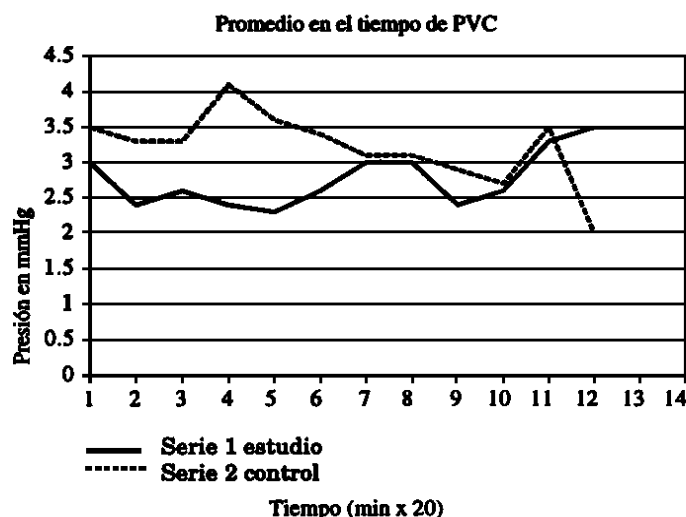


Figura 5. Presión venosa central.

promedio 2.46 μ M; con una desviación estándar de 0.27 (Cuadro 2).

El promedio de la concentración de nitritos encontrados para estos grupos después de la segunda hora posterior al reto (y posterior a la inyección de L-NIO en el grupo control) fue para el grupo control de 2.75 μ M con una desviación estándar de 0.5 y para el grupo en estudio se presentó un promedio de 2.5 μ M con una desviación estándar de 0.2 lo que arrojó una $p = 0.054$ (Cuadro 3).

La presión arterial sistémica, mostró un aumento tanto en sus valores absolutos como en la tendencia de sus valores y esto en directa relación con la sobrevida, haciéndose esto más evidente a partir de los 40 minutos posteriores a la inyección del inhibidor de la síntesis del NO. El promedio global de la varianza de presión arterial sistémica en relación a la basal para el grupo control fue de -35.18 mmHg con una variación estándar de 46.8, mientras que en el grupo control el promedio de varianza con relación a la basal fue de 29 mmHg con una desviación estándar de 87.6 (Figura 3). Durante los primeros 120 minutos, no existe diferencia entre las presiones observadas en ambos grupos, sin embargo a los 160 minutos se encontró un aumento significativo de la presión arterial del grupo experimental alcanzando una $p = 0.05$, presentándose un promedio en la varianza del grupo control de -18.4 mmHg contra un promedio de 7 mmHg en el grupo experimental con una desviación estándar de 66 y 54 mmHg respectivamente.

En relación a la frecuencia cardiaca, tanto el grupo control como el grupo experimental, mostraron una tendencia muy similar (Figura 3). El promedio global para la varianza de la frecuencia cardiaca expresada en latidos por minuto en relación a los valores basales fue de 41 latidos con una desviación estándar de 94 en el grupo control mientras que para el grupo en estudio el promedio global fue de 72 latidos por minuto con una desviación estándar de 5 lo que impide un análisis estadístico real por las desviaciones estándar tan dispersas en nuestro universo (Figura 4).

Finalmente la presión venosa central no mostró diferencia, entre ambos grupos, presentando una presión venosa central promedio en el grupo control de 3.2 con una desviación estándar de 1.07, mientras que los valores para el grupo experimental el promedio fue de 2.8 con una desviación estándar de 1.08 (Figura 5).

Discusión

Una vez caracterizado el modelo de sepsis intraabdominal por contaminación fecal, se logró observar que la conducta hemodinámica seguida por el grupo control se asemeja con mucho a los patrones hemodinámicos observados en los pacientes humanos con sepsis severa o estado de shock séptico, pudo observarse el incremento de la frecuencia cardiaca en relación al intento del organismo de compensar la falla de las resistencias vasculares, con un estado de hipertensión inicial que posteriormente, cae ante el fracaso de los mecanismos compensadores, apreciándose como los animales entran en una fase de hipotensión que finalmente los lleva a la muerte.

En este modelo se pudo apreciar un aumento estadísticamente significativo, de la sobrevida del grupo experimental manejado con inhibidores de NO, en relación al grupo control, aunque si bien es cierto la mortalidad permaneció en el 100%. Este aumento en la sobrevida, pudo ser dado, por un aumento en la perfusión tisular periférica al mantenerse la presión arterial media, por la reducción de NO mediada por la inyección de la L-NIO. Si bien es cierto y siendo puristas, no se alcanzó significancia estadística al comparar los niveles de nitritos de ambos grupos ($p = 0.54$) sin embargo a nuestro criterio esto únicamente obliga a aumentar el tamaño de la muestra, ya que siendo descriptivos el alza de la presión arterial compagina perfectamente con la disminución de nitritos plasmáticos en los sujetos experimentales.

En relación a la presión arterial, al inicio ambos grupos, como era de esperarse, mostraron el mismo comportamiento, al presentarse un aumento inicial de la presión arterial media, para luego iniciar el descenso, observándose franca mejoría de la presión arterial a los 20 minutos de la inyección del L-NIO en el grupo en estudio siendo hasta este momento en el cual se pudo encontrar la significancia estadística. Sin embargo es necesario también aumentar el tamaño de la muestra para evidenciar a satisfacción los cambios en la presión arterial, en todo caso la observación de la estabilidad hemodinámica relacionada a la inhibición del NO, invita a continuar la línea de investigación tomando en cuenta otros factores tal como terapia conjunta, o bien, abrir una línea de investigación humana.

La frecuencia cardiaca y la presión venosa central, al parecer son los menos afectados en relación a la inhibición sistémica de producción del NO, sin embargo se requiere de aumentar el universo para conseguir que cambios más pequeños puedan ser identificables.

Al igual que otros estudios, este parece reforzar la teoría de la importancia de NO en la regulación de las resistencias vasculares sistémicas, por modulación del tono vascular. Siendo que la pérdida de tono vascular es un evento perfectamente definido en la fisiopatología de la sepsis severa y en el shock séptico, cabe la esperanza de poder modular este evento, mediante la inhibición selectiva del NO en pacientes seleccionados. Sin embargo la utilidad y seguridad de este procedimiento farmacológico en los seres humanos, así como las indicaciones precisas para la utilización de inhibidores del NO en pacientes como sepsis, por ahora únicamente son especulaciones, que deben tomarse muy en serio y pensar en abrir una línea de investigación humana.

El incremento de la presión arterial demostrada, como se había mencionado con anterioridad, abre una esperanza en el manejo vasomotor en el estado de shock séptico, sin embargo no se debe perder de vista, que la presión arterial sistémica solamente revela la tasa de presión de perfusión y no la distribución de esta perfusión. Y por otro lado, en todo caso el NO y su inhibición solamente es un engrane de un mecanismo sumamente complejo desencadenado por un elemento nocivo para el organismo y perpetuado por el organismo *per se*. Esto no debe de desalentar, sino por el contrario, debe ser la base de la investigación continua a fin de contestar la siguiente expectativa: Podrá el óxido nítrico, ingresar al armamental de manejo en la sepsis severa en los humanos y posiblemente utilizar tanto los precursores del NO como sus inhibidores, para procurar una modulación de la respuesta vasomotora y poder así

redistribuir el flujo sanguíneo con la subsecuente mejoría de la disponibilidad de nutrientes y sobre todo de O₂ para poder así contrarrestar un poco los efectos deletéreos de la respuesta inflamatoria.

En relación a la incidencia tan alta de mortalidad no relacionada a sepsis en las ratas, se debió a la falta de habilidad en el manejo de los roedores, siendo corregido el problema con la práctica, teniendo al final del tiempo dedicado a experimentación casi una mortalidad cercana únicamente al 1%.

Referencias

1. Hall JB. Pathogenesis of the septic shock Principles of critical Care McGraw-Hill 1992: 674.
2. Martin CM, Sibbald WJ. Modulation of hemodynamics and organ blood flow by nitric oxide synthase inhibition is not altered in normotensive, septic rats. Am J Respir Crit Care 1994; 1: 1539-44.
3. Nitric oxide; a physiologic messenger. Ann Intern Med 1994 3; 120: 227-37.
4. Oddis CV, Simmons RL, Hattler BG, Finkel MS. Chronotropic effects of cytokines and the nitric oxide synthase inhibitor, L-NMMA, on cardiac myocytes. Biochem Biophys Res Commun 1994; 15: 2: 992-7.
5. Offner PJ, Ogura H, Jordan BS, Pruitt BA Jr, Cioffi WG. Cardiopulmonary effects of combined nitric oxide inhibition and inhaled nitric oxide in porcine endotoxic shock. Title Abbreviation: J Trauma 1996; 4: 641-6
6. Pantoja y Padilla. Sobrevida en un modelo experimental de sepsis intraabdominal en ratas con diferentes inhibidores de óxido nítrico. Rev Snd Mil 1996; 1: 45-50
7. Statman R, Cheng W, Cunningham JN, Henderson JL, Damiani P, Siconolfi A, Rogers D, Horovitz JH. Nitric oxide inhibition in the treatment of the sepsis syndrome is detrimental to tissue oxygenation. J Surg 1994; 57: 93-8
8. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee; Chest 1992; 101: 1649-55