

## **SINDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTEMICA.**

### ***EPIDEMIOLOGIA DEL SIRS.***

No se dispone de la incidencia precisa del SRIS y sepsis, debido a que no son eventos reportables, aunque algunos hospitales universitarios de los Estados Unidos han reportado sus propias experiencias. En uno de estos estudios publicado en 1972, McCabe y colaboradores, estiman que 300 000 casos de bacteriemias por bacilos Gram negativos, ocurren en los Estados Unidos cada año. En otro estudio publicado por el “Centers for Disease Control and Prevention (CDC)” en 1970, concluyen que entre 71,000 y 140,000 de bacteriemias por gérmenes Gram-negativos ocurren en los estados Unidos cada año. Young ha estimado que la incidencia de bacteriemias por gérmenes Gram-negativos, oscila entre 34 y 145 casos por 100,000 habitantes cada año.

Aunque bacteriemia no es sinónimo de sepsis o SIRS, datos recientes del “National Hospital Discharge Survey” muestran un gran incremento en la incidencia de septicemias desde 1979 hasta 1987. El estudio estima además que 164,000 casos de septicemia ocurrieron en 1979 (74 por 100,000 habitantes), y 425,000 en 1987 (176 por 100,000 habitantes). Un total de 2.5 millones de egresos con el diagnóstico de septicemia se estima, han ocurrido en los 9 años comprendidos entre 1979 y 1987. La septicemia fue la decimotercera causa de muerte en los Estados Unidos durante estos años.

Estudios más recientes en los E.U; muestran un incremento del 58%, de 41 a 65 por 100,000 habitantes, en la frecuencia de muerte por enfermedades infecciosas entre los años 1980 y 1992.

Existen diferentes hipótesis para justificar el incremento de casos con diagnóstico de sepsis: los tratamientos con quimioterapia agresiva provocan inmunodepresión y aumento de los casos de sepsis por infecciones oportunistas. De forma similar el uso de esteroides y otras drogas inmunosupresoras en el transplante de órganos, predispone a los pacientes a las infecciones por hongos, virus y otros patógenos. Además, los pacientes con SIDA, actualmente tienen una mayor supervivencia y un mayor riesgo de adquirir infecciones. El uso cada vez mayor de catéteres y otros dispositivos intravasculares predispone a la sepsis con frecuencia cada vez mayor. El aumento de la resistencia bacteriana, también contribuye al aumento creciente de los casos reportados con sepsis. Los enfermos crónicamente enfermos y encamados son particularmente susceptibles.

La epidemiología de los organismos responsables de sepsis y SIRS, ha cambiado con el tiempo. En los últimos 10 años, el número de sepsis causadas por organismos Gram-positivos, y hongos, se ha incrementado dramáticamente y la incidencia de bacteriemias por gérmenes Gram-negativos, ha permanecido relativamente constante. Aunque aún existe un error interpretativo al correlacionar el mayor número de sepsis y SIRS con gérmenes Gram-negativos, motivado por al menos dos falsas interpretaciones: en primer lugar la mayor parte de las investigaciones sobre el síndrome séptico han sido centradas acerca del role del fosfolípido A (endotoxina). El lípido A se encuentra en altas concentraciones entre las Enterobacteriaceae y las Pseudomonadaceae. El lípido A resulta fácil de purificar e inyectar por vía endovenosa lo cual hace las investigaciones mucho más fácil que las desarrolladas con bacterias Gram-positivas.

En segundo lugar, la sepsis comenzó a jugar su importante papel en la practica clínica con el advenimiento del desarrollo médico-tecnológico a partir de a 1960, cuando enfermos críticamente enfermos comenzaron a aumentar sus expectativas de vida. Simultáneamente con el desarrollo de las unidades de cuidado intensivos, se produjo un aumento de las sepsis nosocomiales por gérmenes Gram-negativos. Previamente las sepsis generalizadas eran relativamente raras y eran producidas por microorganismos Gram-positivos. En 1970 las bacterias gramnegativas fueron la primera causa de bacteriemia en los Estados Unidos.

En la década de los 80, ocurre un resurgimiento de las bacteriemias y sepsis originadas por bacterias Gram-positivas. Para finales de 1980, el CDC, reportó que los organismos Gram-positivos fueron los responsables del 55% de los casos de sepsis adquiridas en el hospital, los Staphylococcus coagulasa negativos (Staphylococcus epidermidis), fue el responsable del 27% de los casos. Estudios realizados en igual periodo de tiempo reportan un aumento al cuádruple de las fungemias, mientras el numero de bacterias por Gram-negativos permaneció sin sufrir variaciones. La explicación más probable para estos hallazgos epidemiológicos, pudiera ser en aumento de las cateterizaciones endovenosas. El uso continuo de la medicación endovenosa ha originado un incremento sensible de bacteriemias por gérmenes normalmente presentes en la piel como Staphylococcus y Streptococcus.

Aunque bacteriemia no es sinónimo de sepsis o SIRS, datos recientes del “National Hospital Discharge Survey” muestran un gran incremento en la incidencia de septicemias desde 1979 hasta 1987. El estudio estima además que 164,000 casos de septicemia ocurrieron en 1979 (74 por 100,000 habitantes), y 425,000 en 1987 (176 por 100,000 habitantes). Un total de 2.5 millones de egresos con el diagnóstico de septicemia se estima, han ocurrido en los 9 años comprendidos entre 1979 y 1987. La septicemia

fue la decimotercera causa de muerte en los Estados Unidos durante estos años.

## ***RADICALES LIBRES DE OXÍGENO (RL).***

### DEFINICIÓN Y TIPOS DE RL.

Se considera RL aquella molécula que su estructura presenta un electrón no apareado o impar en su órbita externa, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad. En la molécula del oxígeno se conocen las siguientes especies reactivas:

$O_2^-$	Anión superóxido.
$H_2O_2$	Peróxido de hidrógeno.
$HO^-$	Radical hidroxilo.
$^1O_2$	Oxígeno singulete.

El  $H_2O_2$  no es estrictamente un radical libre, pero por su capacidad para generar  $\cdot HO$  en presencia de metales como el hierro, se incorpora como tal.

**RADICALES LIBRES DEL OXÍGENO:** Metabolitos del  $O_2^-$  (Anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo), generados por la NADPH OXIDASA presentes en las membranas de los fagocitos. Aunque pueden reaccionar con gran número de sustancias biológicas, no parece que se generen cantidades suficientes como para producir lesión tisular importante.

Qué es un radical libre.

Un radical libre es cualquier molécula que contiene uno o más electrones no apareados como por ejemplo: radicales superóxidos ( $O_2^-$ ), e hidroxilo ( $\cdot OH$ ). Los radicales libres son moléculas muy reactivas y pueden causar daño a las células e incluso la muerte celular. Las estructuras celulares más frecuentemente dañadas por los radicales libres son:

- ? Ácidos grasos insaturados en membranas celulares.
- ? Proteínas, tales como enzimas y transportadores de iones de membranas.
- ? DNA.

Cómo se forman los radicales libres.

Los radicales libres se forman continuamente en el organismo:

- ? Principalmente por medio de reacciones bioquímicas redox con oxígeno, que tienen lugar en el metabolismo celular normal.
- ? Por fagocitos en una reacción inflamatoria controlada.
- ? En algunas ocasiones como respuesta a la exposición a radiaciones ionizantes, rayos ultravioletas, contaminación ambiental, humo de

cigarrillos, hiperoxia, exceso de ejercicio e isquemia.

## FUENTES DE RADICALES LIBRES.

- ? La mitocondria constituye la principal fuente de RL. Este fenómeno se verifica en el ámbito de la cadena de transporte de electrones, que es la última etapa de producción de protones de alta energía, y cuyo pasaje a través de la membrana interna mitocondrial genera un gradiente eléctrico que aporta la energía necesaria para formar el ATP. En este proceso de fosforilación oxidativa, el  $O_2$  actúa como aceptor final de electrones, adquiriendo en más del 95% de estas reacciones un total de 4 electrones por molécula con producción de dos moléculas de agua. Esta es la reducción tetravalente del oxígeno. Una consecuencia directa de este proceso es que, entre los nutrientes iniciales y la generación de energía al final del proceso, se forman varias moléculas con diferentes grados de oxidación. Algunas de ellas pueden entregar uno o dos electrones al oxígeno, y producir intermediarios parcialmente reducidos que son los RL.
- ? Otras fuentes de RL son los peroxisomas, organelos del citosol muy ricos en oxidasas; que generan  $H_2O_2$  el cual es depurado por enzimas específicas (catalasas) y transformado en agua.
- ? Los leucocitos polimorfonucleares constituyen una fuente importante de RL (dentro del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica) cuando se activan por diversas proteínas que actúan específicamente sobre ellos (complemento, interleukinas, etc). Los leucocitos poseen en su membrana una enzima NADPH oxidasa generadora de  $O_2^-$  que en presencia de hierro se transforma en el altamente tóxico  $\cdot OH$ .
- ? Enzima xantina deshidrogenasa: esta enzima predomina en el endotelio vascular, normalmente depura las xantinas formando ácido úrico. Cuando vira a la forma oxidasa (isquemia, estimulación por  $Ca^{+2}$ ), genera  $O_2^-$ . Los RL se forman en condiciones fisiológicas en proporciones por los mecanismos defensivos de las células. En situaciones patológicas esta producción se incrementa sustancialmente ingresándose al estado de stress oxidativo. Los factores que llevan a esta situación son:

Químicos:

Aumento de los metales pesados.

Xenobióticos.

Componentes del humo del tabaco.

Drogas:

Adriamicina.

Físicos:

Radiaciones ultravioletas.

Hiperoxia.

Orgánicos y metabólicos:

Dieta hipercalórica.

Dieta insuficiente en antioxidantes.

Procesos inflamatorios y traumáticos.

Diabetes.

Fenómeno de isquemia reperusión.

Ejercicio extenuante.

Cada radical libre formado en el organismo, puede iniciar una serie de reacciones en cadena, que continua hasta que los radicales libres sean eliminados. Los radicales libres desaparecen del organismo tras diversas reacciones con otros radicales libres, o lo que es más importante, debido a la acción del sistema antioxidante.

## STRESS OXIDATIVO.

En 1954, una investigadora argentina Rebeca Gersschman, sugirió por primera vez que los radicales libres eran agentes tóxicos y generadores de patologías. En una publicación que resulto pionera en este terreno estableció tres postulados básicos:

1. Los RL constituyen un mecanismo común de daño cuando los animales son sometidos a altas presiones de oxígeno y a radiaciones ionizantes.
2. El desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes produce los efectos tóxicos.
3. La producción de RL es un fenómeno continuo con implicaciones en el envejecimiento y la carcinogénesis.

Por su alta inestabilidad atómica los RL al colisionar con una biomolécula le extraen un electrón oxidándola. La biomolécula pierde de esta manera su función específica en la célula. Si se trata de lípidos (ácidos grasos polinsaturados), se dañaran las estructuras ricas en ellos, esencialmente las membranas celulares y las lipoproteínas. En el caso de las primeras se altera su permeabilidad conduciendo al edema y la muerte celular. En el caso de las segundas, la oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad), constituye uno de los mecanismos que participa en la génesis de la placa de ateroma. La característica de la oxidación lipídica por los RL, es que se trata de una reacción en cadena en la cual el ácido graso al oxidarse, se convierte en radical de ácido graso con capacidad de oxidar a otra molécula vecina. Este proceso conocido como peroxidación lipídica genera numerosos subproductos, muchos de ellos tóxicos como el

malondialdehído (MAD); cuya determinación en los tejidos, plasma u orina es uno de los métodos de evaluar el stress oxidativo.

En el caso de las proteínas, se oxidan preferentemente los aminoácidos fenilalanina, tirosina, histidina y metionina. Como consecuencia se forman entrecruzamientos de cadenas péptidas, fragmentación de la proteína y formación de grupos carbonilos.

Las proteínas cumplen numerosas funciones en el organismo, las decenas de miles de enzimas que regulan el metabolismo celular son proteínas, así como los transportadores iónicos de membrana, los receptores y los mensajeros celulares son igualmente proteínas. Algunos tejidos como el cristalino se hallan constituidos en más del 90% por este material biológico. Una fuerte evidencia sugiere que la enfermedad de cataratas es consecuencia de la oxidación proteica del cristalino.

Otra molécula que resulta afectada es el ADN del cristalino; el daño a los ácidos nucleicos produce bases modificadas, lo que tiene seria repercusión en el desarrollo de mutaciones y carcinogénesis por una parte, o la pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño al gen específico.

El daño a biomoléculas determina que los RL se hallen implicados en la génesis o exacerbación de numerosos procesos. Con el transcurso del tiempo, la lista de patologías se extiende a medida que surgen nuevas investigaciones clínicas.

## EL SISTEMA DE LOS ANTIOXIDANTES.

Halliwell define como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.

El sistema antioxidante protege a los tejidos de los efectos de los radicales libres. El sistema antioxidante contiene tres grupos principales de antioxidantes:

? Antioxidantes primarios: previenen la formación de nuevos radicales libres. Esto lo consiguen convirtiendo los radicales libres existentes en moléculas menos perjudiciales, antes de que puedan reaccionar, o evitando la formación de radicales libres a partir de otras moléculas. Por ejemplo:

Superóxido dismutasa (SOD): convierte  $O_2^-$  en peróxido de hidrógeno.

Glutación peroxidasa (GPx): convierte el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes de que formen radicales libres.

Proteínas de unión a metales (Ej: ferritina y seruloplasmina): limitan la disponibilidad de  $Fe^{+2}$  necesaria para formar el radical .OH.

- ? Antioxidantes secundarios: capturan los radicales, evitando las reacciones en cadena. Ej: vitamina E (alfa-tocoferol), vitamina C (ascorbato), betacaroteno, ácido úrico, bilirrubina y albúmina.
- ? Antioxidantes terciarios: reparan las biomoléculas dañadas por los radicales libres. Incluyen enzimas reparadoras de ADN y la metionina sulfóxido reductasa.

Otra clasificación de los antioxidantes los divide en:

- ? Exógenos: Vitamina E, vitamina C, betacaroteno, flavonoides y licopeno.
- ? Endógenos: Glutación, coenzima Q y ácido tióctico.
- ? Enzimas: superóxido dismutasa (DOS), glutación peroxidasa.
- ? Cofactores: Cobre, zinc, manganeso, hierro y selenio.

Cualquier deficiencia en el sistema antioxidante provoca una pérdida de protección de los tejidos frente al ataque de los radicales libres y niveles anormales de enzimas antioxidantes GPx y SOD. La reducción del estado de los antioxidantes totales se ha visto implicados en la sepsis grave.

**OXIDANTES TÓXICOS:** La mieloperoxidasa liberada al intersticio por los polimorfonucleares se combina con el peróxido de hidrógeno oxidando radicales haluro. El ácido hipocloroso que se encuentra en mayores concentraciones es altamente reactivo y genera otros oxidantes nitrogenoclorados (cloraminas) igualmente tóxicas, pero con acción más prolongada por tener una vida media más larga. Estos oxidantes inactivan los inhibidores de las enzimas proteolíticas alfa 1 inhibidor (inhibidor del activador del plasminógeno alfa 2, macroglobulinas alfa 1 antitripsina etc.) que de esta forma se ven libres para degradar los tejidos.

## MEDICIÓN DE DEFENSAS OXIDANTES Y STRESS OXIDATIVO.

El conocimiento de los valores basales de las defensas antioxidantes permite su administración dosificada a las necesidades de cada paciente, así como evaluar la respuesta terapéutica. La indicación más adecuada sería el



paciente con factores de riesgo (prevención primaria), o aquel que ya halla tenido un evento de patología tumoral o cardiovascular (prevención secundaria).

La determinación de antioxidantes se realiza con técnicas de HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), sobre material biológico que puede ser plasma, orina o tejido. A los fines prácticos se determinan los valores plasmáticos de los siguientes antioxidantes: vitaminas C y E, coenzima Q, glutatión y betacaroteno.

Existen numerosos estudios para evaluar el stress oxidativo o daño de las biomoléculas, siendo el más empleado por su sencillez y bajo costo la determinación plasmática de malondialdehído (MDA), uno de los subproductos de la peroxidación lipídica.

Indicaciones de los antioxidantes y recomendaciones terapéuticas para la practica diaria.

En los últimos 20 años, el Instituto Nacional del Corazón y otras instituciones en los Estados Unidos y Europa, han establecido el valor preventivo de los antioxidantes y oligoelemntos en las enfermedades cardiovasculares, los tumores y el envejecimiento de ciertos tejidos. Su ausencia de toxicidad y efectos colaterales permite que se administren en un rango variable.

Los antioxidantes estarían indicados en:

- ? Antecedentes hereditarios de patología arterioesclerótica o tumoral.
- ? Tabaquismo.
- ? Hipertensión.
- ? Dislipidemia.
- ? Diabetes.
- ? Obesidad
- ? Sedentarismo y stress.
- ? Menopausia.
- ? Angina de pecho.
- ? Patología vascular periférica.
- ? Episodios de isquemia cerebral transitoria.
- ? Antecedentes de infarto.
- ? Cataratas incipientes.
- ? Displasia mamaria.

Dosis diarias recomendadas de antioxidantes y oligoelementos.

? Vitamina E:	100-400 mg.
? Vitamina C:	200-2000 mg.
? Betacaroteno:	2-10 mcg.
? Selenio:	50-100 mcg.
? Manganeso:	1.5 mg.
? Cobre:	1 mg.

## ***AUTACOIDES.***

### **HISTORIA.**

En 1930, dos ginecólogos norteamericanos, Kurzrok y Lieb, observaron que las fibras del útero humano, se relajaban por contacto cuando eran expuestas al semen humano. Goldblatt en Inglaterra, y von Euler en Suecia, reportaron de forma independiente, contracción del músculo liso y actividad vasodepresora, en el líquido seminal. Von Euler, identificó el principio activo como un material lipídico soluble en ácido, al cual denominó prostaglandina. Pasaron más de 20 años antes de demostrar que la prostaglandina constituía en realidad una familia de más de 20 compuestos. En 1964, Berstrom y colaboradores, y van Dorp de forma independiente, lograron sintetizar FGE<sub>2</sub>, a partir del ácido araquidónico, usando homogeneizados de vesículas seminales de carnero.

El conocimiento ulterior de que las prostaglandinas constituyen sólo una fracción de los productos fisiológicos activos del metabolismo del ácido araquidónico, es el resultado de los descubrimientos posteriores del tromboxano A<sub>2</sub> (Hamberg, 1975), prostaciclina PGI<sub>2</sub> (Moncada, 1976), y leucotrienos (Samuelsson, 1983). El descubrimiento por Vane, Smith y Willis en 1971, de que la aspirina, inhibía la biosíntesis de las prostaglandinas, constituyó un paso determinante en el descubrimiento de las funciones biológicas de los autacoides.

La familia de las prostaglandinas, leucotrienos y otros compuestos relacionados, se denominan eicosanoides, por ser derivados de un ácido graso esencial de 20 carbonos, que contiene tres, cuatro o cinco doble enlaces: 8,11,14 ácido eicosatrienoico (ácido linolénico); 5,8,11,14 ácido eicosatetranoico (ácido araquidónico); y 5,8,11,14,17 ácido eicosapentanoico. En los seres humanos, el araquidonato es el precursor más importante y se deriva de la ingestión del linolénico y otros ácidos grasos encontrados en abundancia en el aceite de pescado. El araquidonato es esterificado como fosfolípido en las membranas celulares y otros complejos lipídicos. Debido a que el araquidonato libre en las células es muy bajo, la biosíntesis de los eicosanoides depende fundamentalmente de la disponibilidad de la enzima eicosanoide sintetasa. Esto resulta de su liberación desde los depósitos celulares de lípido, por la acetil-hidrolasa y de forma más notable por la fosfolipasa A<sub>2</sub> y en las plaquetas humanas, la diacilglicerol lipasa. La biosíntesis de los eicosanoides esta regulada

estrechamente y ocurre en respuesta a una amplia variedad de estímulos físicos, químicos y hormonales.

Composición de los autacoides.

Compuestos por dos familias distintas derivados de los fosfolípidos de membrana.

- A. Eicosanoides; derivados de ácidos grasos polinsaturados, principalmente araquidónico.
- B. Folípidos modificados.

Eicosanoides	Prostaglandinas. Prostaciclina Tromboxano A <sub>2</sub> Leucotrienos.
Folípidos modificados	Factor Activador Plaquetario. (formado por leucocitos, plaquetas y células endoteliales).

## BIOSÍNTESIS Y METABOLISMO:

Los ácidos grasos esenciales de la dieta (ácido linoleico y otros), resultan esterificados en las células lipídicas para formar la mayor parte de los fosfolípidos de las membranas celulares.

La acción de la fosfolipasa A<sub>2</sub>, la acetilhidrolasas, y muy diversos estímulos químicos, mecánicos y hormonales, actúan sobre los fosfolípidos de las membranas celulares, dando lugar al ácido araquidónico.

Las tres rutas metabólicas del ácido araquidónico son:

1. Vía de la lipoxigenasa.
  - ? 12 lipoxigenasa: conduce a la formación de 12-HETE y 12-HPETE.
  - ? 5 lipoxigenasa: da lugar a la formación de 5-HPETE y leucotrienos.
2. Vía de la cicloxigenasa:
  - ? Cicloxigenasa -1 (constitutiva).
  - ? Cicloxigenasa -2 (inducible por la acción de citocinas, endotoxinas y factor de crecimiento).Ambas dan lugar a la formación de los endoperóxidos cíclicos (PGG<sub>2</sub> y PGH<sub>2</sub>).

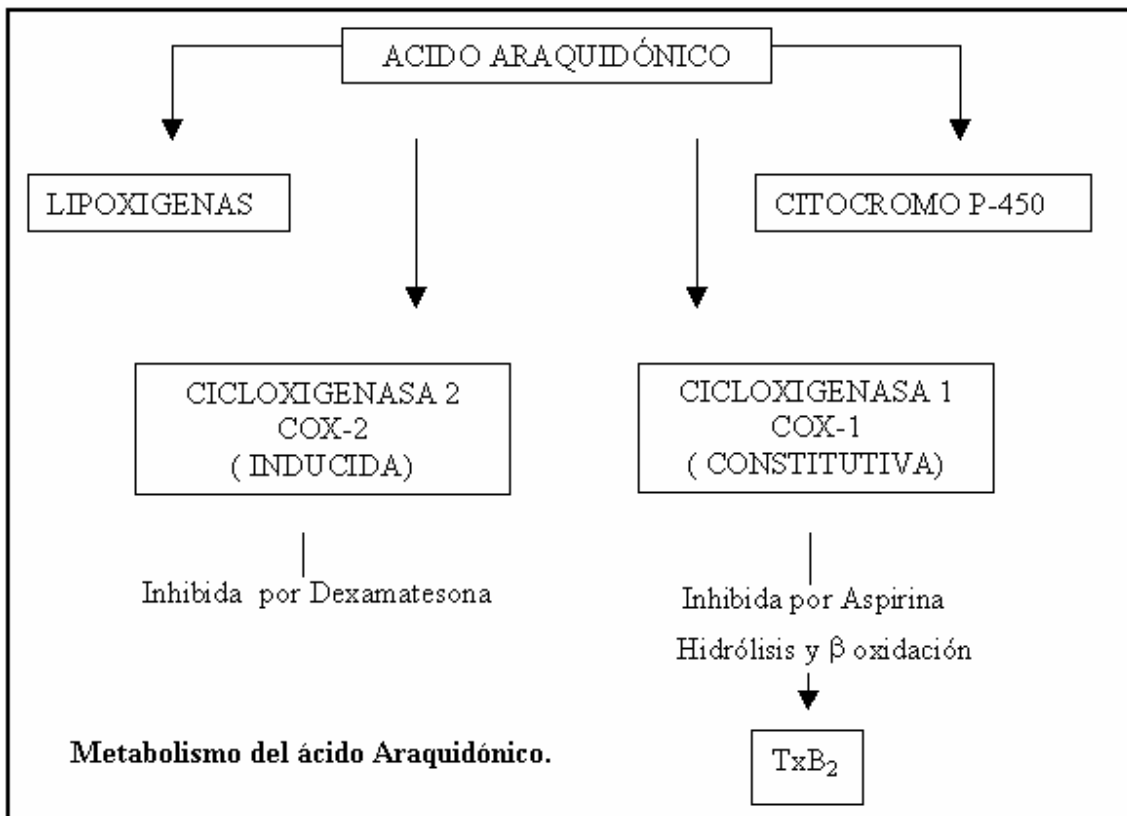
Sobre los endoperóxidos cíclicos actúan las siguientes enzimas.

- ? Prostaciclina sintetasa: da lugar a la formación de  $\text{PGF}_1$  alfa.
- ? Isomerasa: origina PGDH y  $\text{PGD}_2$ .
- ? Tromboxano sintetasa: da lugar a la formación de tromboxano  $\text{A}_2$ .

Comentarios:

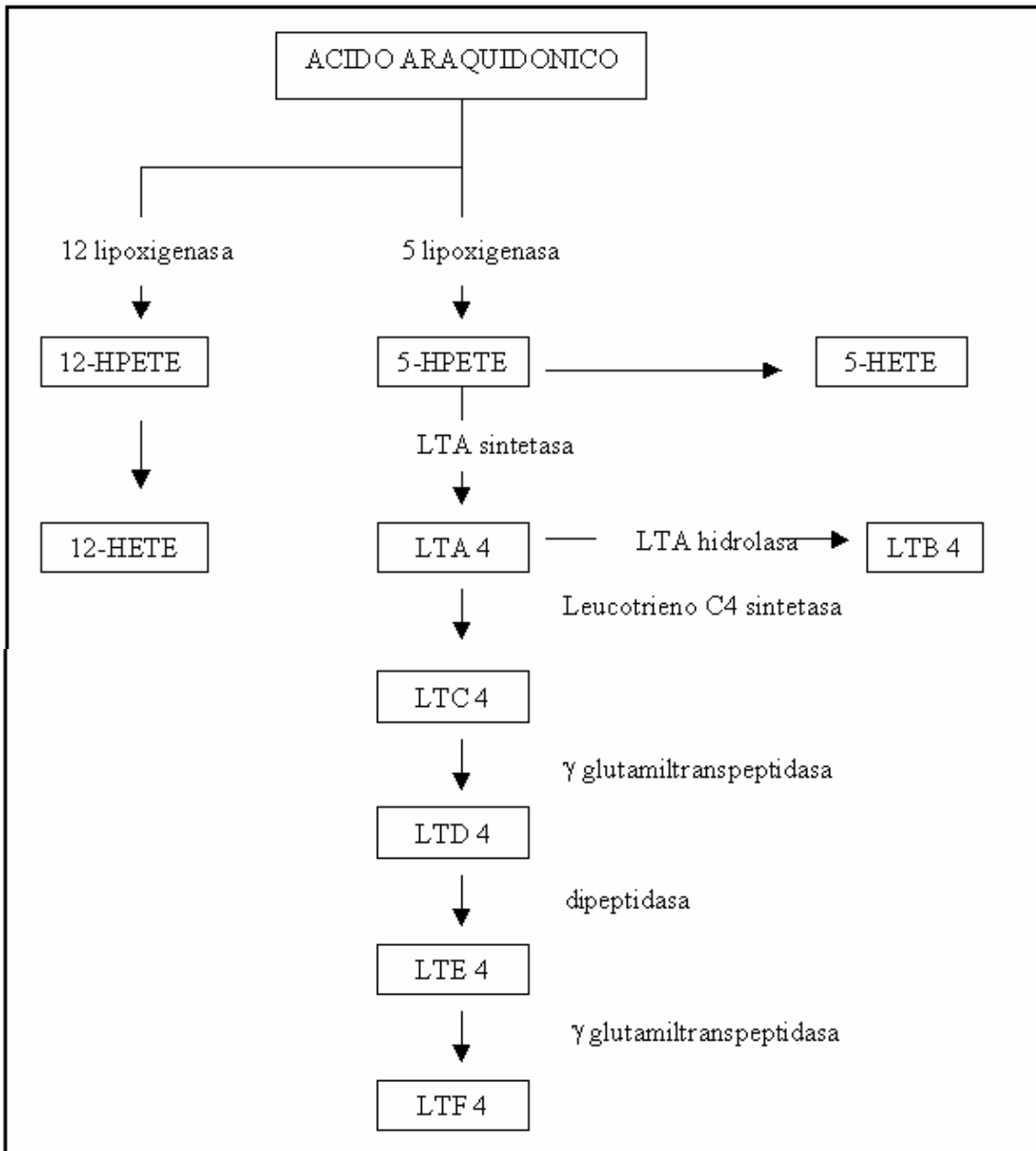
- a) La aspirina y la indometacina inhiben la cicloxigenasa pero no la lipoxigenasa.
- b) Los glucocorticoides endógenos regulan la expresión de la COX 2 (no actúan sobre cicloxigenasa). Se considera por tanto, que los efectos antiinflamatorios de los glucocorticoides, se correlaciona con su potencia para expresión de COX 2 inducida por citokinas, más que con su potencia de inhibir  $\text{PLA}_2$ .
- c) Los inhibidores selectivos de la COX- 2 (segunda generación de antiinflamatorios no esteroideos), ofrecen grandes ventajas, ya que inhiben la producción de prostaglandinas en el sitio de la inflamación, pero no en el tracto gastrointestinal y los riñones, esto hace que produzcan su acción antiinflamatoria sin producir daño sobre la mucosa gastrointestinal y el funcionamiento renal.
- d) El ácido 5,8,11,14 eicosatetranoico inhibe tanto a la cicloxigenasa como a la lipoxigenasa.
- e) Dazoxiben y piroxicam resultan inhibidores selectivos de la tromboxano sintetasa.

3. Vía del citocromo P-450.



1. ASA e Indometacina inhibe la Cicloxigenasa pero no la Lipoxigenasa.
2. Dazoxiben y Pirmagrel son inhibidores selectivos de la Tromboxano sintetasa.

## VÍA DE LA LIPOXIGENASA:



LTC4 - LTD4: Antiguamente conocidos como sustancia de reacción lenta de la anafilaxia ( SRS-A).

Recientemente se ha descrito una vía no enzimática de conversión del ácido araquidónico, la misma conduce a la formación de un grupo de compuestos denominados isoprostanos (Morrow, 1990). Estos compuestos guardan semejanza estructural con los derivados de la cicloxigenasa PGS, surgen in vivo de la peroxidación del ácido araquidónico por radicales libres independientemente de la cicloxigenasa. A diferencia de los eicosanoides derivados de la cicloxigenasa, los isoprostanos identificados hasta la fecha se forman completamente in situ en los fosfolípidos y subsecuentemente se

liberan preformados. Consecuentemente su producción no resulta bloqueada por agentes que suprimen el metabolismo del ácido araquidónico libre, como la aspirina y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos o de agentes que suprimen la actividad de la COX-2, como los esteroides suprarrenales. Se postula que estos agentes pueden contribuir a la patofisiología de la respuesta inflamatoria insensible a los esteroides y AINES.

## CATABOLISMO DE LOS EICOSANOIDES.

Existen mecanismos eficientes para el catabolismo e inactivación de los eicosanoides. Cerca del 95% del PGE<sub>2</sub> infundido se inactiva durante su paso a través de la circulación pulmonar. Debido a la posición única de los pulmones entre los sistemas arteriales y venosos, el lecho vascular pulmonar constituye un importante filtro para muchas sustancias incluyendo las prostaglandinas. De forma general, las reacciones de catabolismo enzimático, comprenden dos pasos. Un paso inicial (relativamente rápido), catalizado por enzimas prostaglandin-específicas, ampliamente distribuidas, donde las prostaglandinas pierden la mayor parte de su actividad biológica, y en segundo paso (relativamente lento), en el cual estos metabolitos son oxidados por enzimas probablemente idénticas a las que producen la oxidación de la mayoría de los ácidos grasos.

Más de 20 metabolitos del tromboxano A<sub>2</sub>, han sido identificados en la orina, los más importantes el 2-3 dinor TxB<sub>2</sub> y el 11-dihidro-TxB<sub>2</sub>. estas sustancias son producidas por la hidrólisis y la beta-oxidación del TxA<sub>2</sub>.

La degradación de LTC<sub>4</sub>, ocurre en pulmones, riñones e hígado. El paso inicial implica su conversión a LTE<sub>4</sub>, y como resultado, la pérdida de su actividad biológica. LTC<sub>4</sub>, también puede ser inactivado por oxidación al igual que LTB<sub>4</sub>.

Prostaglandinas endógenas, tromboxanos y leucotrienos: posibles funciones en procesos fisiológicos y patológicos.

Debido a que los eicosanoides pueden formarse virtualmente en casi todas las células, sería razonable pensar que cada efecto farmacológico, puede reflejar una función fisiológica o fisiopatológica.

1. Plaquetas: está demostrado que la agregación de las plaquetas conduce a la activación de los fosfolípidos de membrana, con la consecuente



liberación de ácido araquidónico y su subsecuente transformación en prostaglandin-endoperóxidos y  $\text{TxA}_2$ . La importancia de la vía metabólica del tromboxano en las plaquetas queda demostrada por el hecho de que la aspirina y los antagonistas de los receptores de TP, inhiben la segunda fase de la agregación plaquetaria, e inducen defectos de la hemostasis en los seres humanos.

La  $\text{PGI}_2$  generada en las paredes de los vasos resulta el antagonista fisiológico de este sistema, al inhibir la agregación de las plaquetas y contribuir a las propiedades no trombogénicas del endotelio. De acuerdo con este concepto,  $\text{PGI}_2$  y  $\text{TxA}_2$ , representan polos opuestos en el mecanismo de regulación de la interacción plaqueta-endotelio vascular y la formación de trombos intrarteriales y tapones hemostáticos.

2. Reproducción y parto: las prostaglandina juegan un importante papel en la fisiología de la reproducción. Su concentración muy alta en el semen, unido a su absorción sustancial por la vagina, ha respaldado la idea, de que las prostaglandinas depositadas durante el coito, facilitan la concepción, actuando sobre el cervix, cuerpo uterino, trompas y transportación de semen.

La concentración de prostaglandinas, se encuentra muy elevada en el líquido menstrual, estas prostaglandinas producen contracción uterina y del músculo liso gastrointestinal, y su síntesis estimula a las fibras aferentes del dolor contribuyendo a los síntomas de la dismenorrea. Esta es la razón por la cual los inhibidores de la cicloxigenasa resultan más efectivos que los analgésicos y narcóticos en el control de los síntomas de esta enfermedad.

Durante el parto, las concentraciones de prostaglandinas resultan muy elevadas en sangre y en el líquido amniótico, pero se desconoce, si resultan determinantes mayores para el comienzo y mantenimiento del trabajo de parto, o sólo sirven para sostener la contracción uterina iniciada por la oxitocina.

Los inhibidores de la cicloxigenasa incrementan el tiempo de gestación, prolongan la duración del trabajo de parto e interrumpen el parto prematuro.

3. Músculo liso vascular y pulmonar: durante la exposición del tejido pulmonar a antígenos apropiados se libera una compleja mezcla de autacoides; dentro de la que se encuentran varios leucotrienos y prostaglandinas. Se liberan tanto prostaglandinas brocodilatadoras ( $\text{PGE}_2$ ), como sustancias broncoconstrictoras ( $\text{PGF}_2$  alfa,  $\text{TXA}_2$  y LTC 4), pero se conoce que la respuesta a los leucotrienos domina durante la constricción alérgica de las vías aéreas. Una evidencia de esta

observación es el fracaso en el tratamiento del asma bronquial con el uso de antagonistas histaminérgicos e inhibidores de la cicloxigenasa.

4. Riñones: los factores que reducen el flujo sanguíneo renal, como el estímulo de los nervios simpáticos y la angiotensina, incrementan la síntesis de PGE<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub>.
5. Respuesta inmune e inflamatoria: las prostaglandinas y leucotrienos, resultan liberadas por el huésped frente a injurias mecánicas, térmicas, químicas y bacterianas y contribuyen de forma determinante a la génesis de los síntomas y signos de la inflamación. Los leucotrienos, poseen potentes efectos sobre la permeabilidad vascular, LTB<sub>4</sub> induce quimiotaxia de leucocitos polimorfonucleares y puede promover la exudación de plasma mediante el reclutamiento de otros mediadores inflamatorios adicionales. Aunque las prostaglandinas no ejercen efectos directos sobre la permeabilidad vascular, tanto PGE<sub>2</sub> como PGI<sub>2</sub>, estimulan de forma marcada la formación de edema y la infiltración de leucocitos, aumentando el flujo sanguíneo en la región inflamada. Además, ellos potencian el dolor inducido por bradikinas y otros autacoides.

## USOS TERAPÉUTICOS.

1. Aborto: su acción como inductor de aborto cuando se administra temprano en el embarazo, está bien establecida. Se realizan investigaciones tratando de establecer supositorios vaginales capaces de producir “contracepción” post-implantación. PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2</sub> alfa, inducen el trabajo de parto a término, pero tienen mucho más valor cuando se usan para facilitar el parto induciendo la maduración y dilatación del cuello.
2. Citoprotección gástrica: está demostrado la acción citoprotectora de PGE<sub>1</sub> (rioprostil, misoprostol) y PGE<sub>2</sub> (enprostil, arbaprostil y trimoprostil). Estas drogas son utilizadas en la actualidad para prevenir la formación de úlceras durante la administración prolongada de antiinflamatorios no esteroideos, también resultan de utilidad en la prevención del daño renal producido por estas drogas. Se dispone de misoprostol oral, con este objetivo, la dosis es de 200 mcg cuatro veces al día. Esta droga no debe administrarse a mujeres embarazadas porque estimula la actividad uterina.
3. Isquemia: existen evidencias de que PGI<sub>2</sub>, disminuye la presión arterial,

inhibe la agregación de las plaquetas, y reduce la resistencia pulmonar en sujetos normales y en pacientes con angina de pecho.

4. Concentrados de plaquetas y transfusiones: en la actualidad se experimenta con el uso de  $PGE_1$  y  $PGI_2$ , para mejorar la calidad y durabilidad de los concentrados de plaquetas para transfusiones.  $PGI_2$ , también resulta útil para prevenir la agregación de las plaquetas en sistemas de circulación extracorpóreas y en ocasiones resulta un sustituto ventajoso de la heparina.
5. Impotencia: la inyección intracavernosa de  $PGE_1$ , produce erección en pacientes impotentes que no poseen daño vascular o en los cuerpos cavernosos.
6. Estimulación del flujo sanguíneo pulmonar: los vasos sanguíneos pulmonares y en particular el ductus arteriosus en neonatos, resultan muy sensibles a la acción vasodilatadora de  $PGE_1$  y  $PGI_2$ .

## ***OXIDO NÍTRICO.***

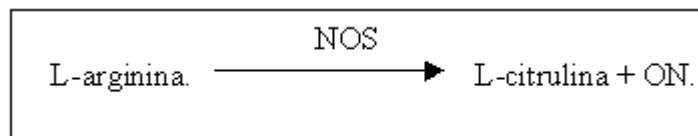
El óxido nítrico es una molécula simple y heterodinámica, con amplios efectos, reconocidos recientemente. Fue identificado por primera vez en 1980, por Furchgott y Zaowadzki, los cuales describieron un producto de las células endoteliales (endothelium-derived relaxing factor, EDRF), capaz de producir intensa vasodilatación. Actualmente este producto se identifica con la molécula de óxido nítrico ON.

El óxido nítrico es sintetizado por una familia de enzimas conocidas como óxido nítrico sintetasa, y se presenta en tres isoformas diferentes:

1. Oxido nítrico sintetasa neuronal, (nNOS, NOS<sub>1</sub> gene product).
2. Oxido nítrico sintetasa inducible, (iNOS, NOS<sub>2</sub> gene product), Presentes en monocitos y macrófagos, células del músculo liso, células endoteliales, fibroblastos, cardiomiocitos, hepatocitos, y megacariocitos.
3. Oxido nítrico sintetasa endotelial, (eNOS, NOS<sub>3</sub> gene product).

Como todo radical libre, el ON, reacciona con los grupos heme, inactivándose y convirtiendo los grupos ferrosos en ferrohemo globina.

La enzima óxido nítrico sintetasa, cataliza la oxidación de cinco electrones de L-arginina, a L-citrulina y óxido nítrico:



Los cofactores requeridos incluyen:

1. Flavin-adenín dinucleótido (FAD).
2. Flavin mononucleótido (FMN).
3. Adenín dinucleotido reductasa (NADPH).
4. Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>).
5. Calcio-calmodulina (CaM).
6. Complejo Heme y Thio equivalentes (RSH).

Acciones fisiológicas:

El óxido nítrico es responsable de una gran variedad de efectos fisiológicos. Su reacción con el grupo Heme mediada por la guanilil ciclasa, es su principal efecto sobre el sistema cardiovascular. En las células del músculo liso, el incremento de guanósín 5 monofosfato cíclico (cyclic GMP), conduce a la activación de la proteína-kinasa GMP cíclico

dependiente y fosforila la miosina al igual que las Kinasas. La miosina reducida posee una afinidad disminuida por el complejo calcio-modulina. La insuficiencia en la estimulación de las cadenas de miosina, reduce la contractilidad del músculo liso y el tono vascular. Los mediadores agonistas incrementan la actividad del calcio en la célula endotelial. De forma adicional, la vasodilatación y el aumento del flujo mediado por el ejercicio, se debe en parte al incremento de calcio endotelial. Por tal razón se considera la actividad de la óxido nítrico sintetasa cardiovascular, calcio dependiente.

El óxido nítrico ON, ejerce efectos similares, sobre las células del músculo liso en otros órganos y sistemas. El óxido nítrico produce relajación del músculo liso gastrointestinal, y provoca disminución del peristaltismo, relajación del esfínter de Oddi, y esofágico.

Puede provocarse relajación del músculo liso bronquial, con la inhalación de óxido nítrico, y su producción endógena, determina el tono basal bronquial y arterial.

Otros efectos del óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS), incluyen el mantenimiento de la integridad vascular, al impedir la adhesión de los leucocitos al endotelio, inhibiendo su migración y proliferación hacia el músculo liso. El ON endotelial es un factor determinante en la hemostasis, contribuyendo a la inhibición normal de la actividad plaquetaria, la producción basal de ON, mediada por la eNOS, inhibe tanto la agregación como la adhesión de las plaquetas en los vasos sanguíneos. La inhibición de la adhesión plaquetaria, mediada por óxido nítrico es una propiedad independiente del ON, no compartida con otros productos antiplaquetas del endotelio como la prostaciclina.

El óxido nítrico endotelial, es un factor determinante en el flujo sanguíneo cerebral, la NOS en neuronas y glías, contribuye a la regulación del tono cerebrovascular.

El ON es considerado un neurotransmisor no adrenérgico y no colinérgico, que participa en la regulación de contractilidad miocárdica, frecuencia cardíaca, motilidad gastrointestinal, tono bronquial y erección peniana.

La producción de ON, mediada por la NOS inducible, en macrófagos, linfocitos y neutrófilos, resulta un factor determinante en la respuesta inflamatoria e inmune. La actividad bactericida, fungicida, viricida, parasiticida y tumoricida son determinadas en gran parte por la elaboración de óxido nítrico, que además atenúa la proliferación de leucocitos, y disminuye la respuesta inmunoalérgica.

## Efectos fisiopatológicos del óxido nítrico:

Tanto el exceso como el defecto de ON, se asocian con estados patológicos. Actualmente se considera la deficiencia de ON, como una de las principales causas de hipertensión arterial. Deng y Rapp, demostraron una estrecha relación entre la ausencia del gen NOS<sub>2</sub> y la hipertensión arterial sodio sensible en ratas. Demostraron además que la adición a la dieta de estos animales de L-arginina impide la respuesta hipertensiva frente al suministro de cloruro de sodio.

En la insuficiencia renal crónica, la concentración de dimetilarginina (un derivado natural de la L-arginina, está muy aumentada e inhibe competitivamente la actividad del óxido nítrico sintetasa, contribuyendo de forma determinante a la hipertensión que acompaña a la insuficiencia renal crónica.

Los factores comunes implicados en la génesis de la arteriosclerosis como, hipertensión arterial, hiperlipidemia, tabaquismo y diabetes, se relacionan todos con un funcionamiento endotelial anormal, dado por una disminución en la bioactividad del ON, esta deficiencia puede ser absoluta o deberse a la inactivación de ON por radicales libres de oxígeno, y se acompañan de incremento del tono vascular, reducción de la actividad antitrombótica, disminución de la acción antiproliferativa, incremento de la permeabilidad vascular, y aumento de la susceptibilidad de las lipoproteínas de baja densidad a la oxidación. Todas estas acciones aceleran el desarrollo de arteriosclerosis y sus complicaciones.

La expresión de la NOS<sub>i</sub>, ocurre en algunos estados patológicos, el más importante de los cuales es la sepsis bacteriana. Las endotoxinas y citocinas, inducen su actividad y aumentan la elaboración de ON, contribuyendo a la producción de hipotensión, diátesis hemorrágicas, e inhibición de la actividad plaquetaria durante la sepsis. La disminución de la contractilidad miocárdica, puede ser explicada en parte, por la actividad del óxido nítrico.

Se ha descrito un aumento de la iNOS, con un aumento de la actividad de la ON en el miocardio, al cual se le atribuye la responsabilidad de la depresión miocárdica observada en algunos pacientes tras la trombolisis coronaria exitosa.

En algunos trastornos de la motilidad del tracto gastrointestinal, como la acalasia, y pseudo-obstrucción intestinal crónica, se ha demostrado deficiente producción de ON, producido por las neuronas de los plexos mientéricos. El ON, juega un importante papel en la citoprotección

gástrica, al aumentar el flujo sanguíneo hacia la mucosa y modular las funciones del epitelio.

Se ha descrito un incremento en la actividad de la NOS2, en hepatocitos, fibroblastos y células endoteliales del hígado. Se piensa que el aumento del ON, es el responsable del estado circulatorio hiperdinámico, observado en la cirrosis de Laennec. Se considera además que la producción de ON por los hepatocitos, juega un papel determinante en la protección de estas células contra una gran variedad de hepatotoxinas, incluyendo etanol y acetaminofén. La hepatoprotección inducida por ON, depende de una disminución en la actividad metabólica de los hepatocitos, conservando los depósitos celulares de energía.

La citotoxicidad inducida por óxido nítrico, juega un importante papel a nivel del SNC, después de una injuria neuronal, grandes cantidades de L-glutamato, son liberadas y producen neurotoxicidad mediante la activación de los receptores de N-metil-D-aspartato; la activación de estos receptores aumenta la actividad de nNOS. La producción de ON a nivel neuronal, no siempre resulta neurotóxica y en ocasión juega un papel citoprotector, esta dualidad esta en dependencia, del estado redox molecular y la concentración de calcio iónico en el citosol neuronal.

La insuficiente producción de óxido nítrico, posterior a la angioplastia percutánea, o disfunción endotelial, puede ayudar o facilitar, la respuesta proliferativa del músculo liso vascular dentro de este contexto. Además, se ha demostrado que la elevada concentración de ON, puede contribuir a los mecanismos de citotoxicidad, en las reacciones de rechazo a los injertos y trasplantes. Los efectos citotóxicos o citoprotectores del ON, resulta del balance entre:

- ? La concentración tisular de ON, y la factibilidad de los radicales libres de oxígeno que puedan reaccionar y formar compuestos oxidativos como  $O_2$ , los cuales reaccionan con el ON, para formar OONO-.
- ? La susceptibilidad de los tejidos y órganos al stress oxidativo.

Implicaciones terapéuticas.

Por más de 100 años, congéneres del óxido nítrico han sido empleados para producir vasodilatación coronaria, en la enfermedad isquémica del miocardio. Estos agentes incluyen nitroglicerina, mononitrato y dinitrato de isosorbide, nitroprusiato los que producen vasodilatación e inhibición de la

actividad plaquetaria, al ser metabolizados a ON. La inhibición de la SONi, puede estar indicada en el contexto del shock séptico, para restaurar la tensión arterial normal. Se ha demostrado que los glucocorticoides, inhiben la transcripción de SON<sub>2</sub>, de allí su utilidad en el tratamiento del shock séptico, cuando se aplican tempranamente.

Los agentes productores de ON, resultan de suma importancia en el tratamiento de la disfunción eréctil.

Investigaciones recientes han demostrado (Head et al., 1997; Scherrer et al., 1996), que el ON, incrementa la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en la Siclemia, actualmente se experimenta con el ON inhalado en el tratamiento de las crisis agudas de esta entidad.

Debido a la selectividad pulmonar relativa del óxido nítrico inhalado, este gas puede ser muy útil a concentraciones de 10 a 40 ppm, en el tratamiento de la hipertensión pulmonar persistente en recién nacidos, en la vasoconstricción pulmonar que acompaña las hernias diafragmáticas congénita, en la hipertensión pulmonar primaria, en el edema pulmonar de las grandes alturas, y en el síndrome de distress respiratorio agudo. La inhalación de altas concentraciones de ON puede resultar muy tóxica debido a su capacidad de reaccionar con oxígeno y formar NO<sub>2</sub>.

El ON puede resultar muy útil en la inhibición de la respuesta proliferativa que sigue a la injuria vascular. Esto sugiere su uso potencial para limitar la re-estenosis posterior a la angioplastia.

Conclusión: la simplicidad de la molécula de ON, contrasta con el amplio rango de sus efectos biológicos, patológicos y terapéuticos. Nuestra comprensión a cerca de sus principales aplicaciones es aún muy incipiente. Con el mejor entendimiento de los efectos órgano-específico del ON, sus potencialidades tóxicas o terapéuticas sobre sistemas orgánicos específicos, y los mecanismos con los cuales su acción puede ser inhibida o aumentada, la potencialidad total de esta molécula como agente terapéutico, quedará plenamente establecida.



## ***INMUNOMODULACIÓN DE LA RESPUESTA SÉPTICA.***

Muchos años después de comenzado los estudios de inmunomodulación en la sepsis, continúan las investigaciones de un modo intenso en el ámbito de la biología celular y molecular, modelos animales de sepsis y ensayos clínicos en humanos. En este capítulo revisamos el respaldo teórico y la fisiopatología del SRIS, el cual puede ser desencadenado tanto por procesos infecciosos como no infecciosos, como pancreatitis, pacientes politraumatizados, y daño orgánico de etiología inmunológica. Esta revisión tiene como objetivo explicar las bases teóricas para poder entender la finalidad de futuras modalidades terapéuticas.

### **RESPALDO TEÓRICO.**

El reconocimiento de la participación de los mediadores en diferentes vías de la respuesta inflamatoria, ha contribuido a redefinir el síndrome séptico, como parte de un proceso mucho más amplio conocido como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. El SRIS se caracteriza por la injuria endotelial producida por una variedad de mediadores proinflamatorios en el ámbito clínico. La liberación de mediadores puede originarse por una gran variedad de estímulos extrínsecos, que incluyen (pero no están solamente limitados) a estímulos infecciosos. Por tanto, todo los intentos de interpretar la espiral clínica de la inflamación sistémica deben incluir numerosos procesos patológicos.

Detrás de los eventos clínicos de la sepsis, fallo multiórgano y SRIS, se encuentran los eventos moleculares y celulares resultantes de la inflamación sistémica. Estos eventos están bajo investigación intensa junto con los mediadores inflamatorios asociados. Esta cascada inmuno-inflamatoria consiste en múltiples y complejos mediadores exógenos y endógenos. Controlados a través de una variedad de mecanismos reguladores, incluyendo transcripción, traslocación, autorregulación, y alteración de los receptores de superficie celular. El control de esta cascada necesita considerar no sólo estos mecanismos reguladores, sino además mediadores específicos como citokinas, radicales de oxígeno, productos de los neutrófilos, productos del sistema de la coagulación, y productos del metabolismo del ácido araquidónico y fosfolípidos. Esta revisión comprende los mediadores específicos, su role en la inflamación sistémica, la modulación celular y los efectos sistémicos.

## MEDIADORES INFLAMATORIOS.

### Mediadores exógenos.

La mayor parte de los mediadores exógenos iniciales que conducen al SRIS son productos de la pared de la célula bacteriana. Los lipopolisacáridos LPS, (endotoxinas libres de proteínas), son productos de la lisis de la pared celular de bacterias Gram negativas y algunas bacterias Gram positivas. Son productos diferentes de las exotoxinas, las cuales son sustancias tóxicas sintetizadas y excretadas por las bacterias intactas. Muchos de los efectos de los LPS son mediados a través de sus interacciones con los ligando-receptores (ligand-receptor) de numerosas células inmunes. Los LPS se unen mediante sus lípidos A, a uniones específicas de proteínas circulantes (LSP-binding protein), para formar complejos LPS-LBP, que junto con el CD14 membranosos inician la liberación de citokinas, por monocitos y macrófagos a concentraciones de LPS mucho más bajas que las requeridas para activar los macrófagos en ausencia de LPB. El componente lípido A, produce las respuestas fisiológicas de la fiebre, inflamación sistémica y colapso hemodinámico si no se controla. Estos efectos fisiológicos, probablemente resulten de la liberación de citokinas y la activación del sistema del complemento, la cascada de la coagulación, el sistema de kininas y los fosfolípidos plasmáticos.

Cada día se reconoce más la importancia de los organismos Gram positivos como causa de enfermedades sistémicas y shock séptico. Los peptidoglicanos constituyen importantes componentes estructurales de la pared celular de los organismos Gram positivos y los mismos son capaces de inducir la respuesta inflamatoria local y amplificar la respuesta inmune celular y humoral. El ácido lipoteicoico (ALT), representa otro constituyente inmunologicamente activo de la pared celular de las bacterias Gram positivas, y puede facilitar la invasión tisular de Streptococcus pyogenes actuando como sitio de unión entre estos organismos y las células epiteliales de la orofaringe. El ácido lipoteicoico puede iniciar la liberación de numerosos productos de los macrófagos incluyendo citokinas como el FNT-alfa, IL-1 beta, e IL-6, así como radicales libres de oxígenos. Además puede inducir la actividad tumoricida.

### Citokinas.

Las citokinas juegan un papel determinante en el espectro clínico de la inflamación sistémica. El desarrollo inicial de la cascada inmunoinflamatoria resulta de la liberación de citokinas, siendo las de

mayor importancia el FNT-alfa e IL-1 beta. Estas citokinas recíprocamente inducen la síntesis y liberación de otras citokinas proinflamatorias. Simultáneamente con el inicio de la cascada proinflamatoria, se liberan proteínas anti-inflamatorias y neutralizantes, como un intento de controlar el proceso inflamatorio. Este balance entre las citokinas proinflamatorias y anti-inflamatorias resulta necesario para el mantenimiento de la integridad vascular. Un desbalance proinflamatorio conduce al SRIS.

El FNT-alfa y la IL-1 beta se liberan en el inicio de la cascada inflamatoria, y ambos poseen propiedades biológicas semejantes. Ambas producen fiebre, inducen la síntesis de prostaglandina E2 (PGE2) colagenasa en una variedad de tejidos, incrementan la reabsorción ósea y cartilaginosa, inhiben la lipoproteinlipasa, incrementan las proteínas hepáticas de fase aguda y componentes del complemento, y disminuyen la síntesis de albúmina. Ellos también estimulan la síntesis de gran número de otros mediadores incluyendo IL-1 e IL-8. Se piensa que la IL-6, es la principal glicoproteína responsable de la inducción de la síntesis de las proteínas de fase aguda y sus niveles séricos elevados se correlacionan con el peor pronóstico en los pacientes con sepsis grave. La IL-8 estimula los neutrófilos en su producción de superóxidos y sus niveles séricos aumentan significativamente después de la administración intravenosa de pequeñas cantidades de endotoxinas. El FNT-alfa es un producto predominantemente liberado por los macrófagos al torrente circulatorio después de la inyección de endotoxinas, alcanzando niveles picos en los primeros 90 a 120 minutos.

Las quimokinas (chemokinas).

Constituyen otro grupo de péptidos mediadores con propiedades proinflamatorias. Constituyen dos familias relacionadas de 8 a 10 kilodalton, que ejercen potentes efectos quimiotácticos sobre los leucocitos y activan sus efectos. Las familias de quimokinas C-X-C, influye sobre la actividad de los neutrófilos, y la familia de quimokinas c-c ejerce sus efectos fundamentalmente sobre la activación de los macrófagos. La proteína inflamatoria de los macrófagos (MIP-alfa 1), un miembro de la familia de las quimokinas aumenta la actividad tumoricida de los macrófagos, estimula la proliferación de macrófagos tisulares maduros (mature) e induce la secreción de FNT, IL-6 e IL-1 a partir de los macrófagos peritoneales.

## Productos derivados de los neutrófilos.

Los productos liberados por los neutrófilos activados durante el proceso séptico, constituyen la causa principal del daño endotelial. Después de fuertes injurias respiratorias por superinsuflación, los superóxidos resultan convertidos rápidamente a peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos. También son liberados lactoferrina, lisozima, mieloperoxidasa, elastasa y colagenasa. La mieloperoxidasa puede interactuar con los derivados de los superóxidos para formar ácido hipocloroso (hypochlorous) y cloro libre. Estos productos dañan seriamente el endotelio vascular, mitocondrias y colágeno, aún en bajas concentraciones. Por ejemplo, a concentraciones sublépticas (sublytic), el peróxido de hidrógeno altera de forma significativa la transducción y producción de FAP y prostaglandina I<sub>2</sub> en las células endoteliales. Además, los radicales tóxicos de oxígeno, pueden producir disfunción de los polimorfonucleares, eritrocitos frágiles y hemólisis intravascular.

## Moléculas de adhesión.

Las moléculas de acción sirven para mediar la interacción célula-célula y célula-sustrato y resultan un componente importante de la cascada inflamatoria. Se han identificado varias familias de receptores de adhesión, las cuales incluyen:

1. Las integrinas: moléculas heterodiméricas que funcionan tanto como receptores de adhesión célula-célula y célula-sustrato.
2. Las moléculas de adhesión de la superfamilia de las inmunoglobulinas: participan en la adhesión célula-célula, y resultan de particular importancia durante la embriogénesis, cicatrización de las heridas y la respuesta inflamatoria.
3. Y las LEC-CAMs o selectinas: moléculas de adhesión celular las cuales median la adhesión celular entre los glóbulos blancos y las células endoteliales.

Una subfamilia beta2 de integrinas, también conocidas como LEU-CAMs están restringidas a los glóbulos blancos. Una de ellas, LFA-1, juega un importante rol en las interacciones leucocito-leucocito, y leucocitos células de adhesión endotelial. LFA-1, se relaciona con las células T, células Natural Killer, y citotoxicidad dependiente de anticuerpos, así como la actividad de las células T auxiliaoras. El ligando para LFA-1 es la glicoproteína ICAM-1, la cual es miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas. ICAM-1 se encuentra presente en muy baja concentración en la mayoría de las células. Aunque, los mediadores inflamatorios, incluyendo LPS, interferón gamma, IL-1 y FNT, causan una

fuerte inducción de ICAM-1 en una amplia variedad de tejidos e incrementan grandemente la unión de linfocitos y monocitos a través de sus LFA-1 de superficie celular. Estas uniones de los leucocitos al endotelio, es un importante primer paso en la localización de las células circulantes en el sitio de inflamación. La inducción de ICAM-1, por interferón gamma e IL-1, en las células endoteliales se correlaciona con el sitio de infiltración de células mononucleares.

El papel de los LEU-CAMs en la respuesta inflamatoria, se ilustra clínicamente por una rara deficiencia hereditaria de las subunidades beta2 de integrinas. Los pacientes con esta condición, llamados LAD, desarrollan un síndrome clínico caracterizado por infecciones recurrentes, demora en la separación del cordón umbilical y anomalías en las funciones de los leucocitos. Estas infecciones, aparentemente, son el resultado de la capacidad de los neutrófilos de alcanzar el sitio de inflamación extravascular. Por ejemplo, los neutrófilos de pacientes con LAD, no pueden adherirse a las células endoteliales, y presentan incapacidad severa de agregación celular, citotoxicidad dependiente de anticuerpos, y fagocitosis. A pesar de la importancia de LEU-CAMs en el mantenimiento de la homeostasis, algunos procesos patológicos inflamatorios, también resultan mediados en parte a través de estos LEU-CAMs.

La tercera familia de moléculas de adhesión, las selectinas o LEC-CAMs, consisten en tres glicoproteínas de superficie celular, que contienen dominios de lectina, y median la respuesta inflamatoria regional mediante el reconocimiento de carbohidratos específicos celulares:

- ? L-selectina, también llamada el “receptor mensajero” (homing receptor), se cree juega un importante rol en la transferencia de mensaje de los linfocitos a los nódulos linfáticos periféricos.
- ? La E-selectina o ELAM (endothelial cell-leukocyte adhesion molecule), se expresa de forma transitoria en las células endoteliales 2 a 8 horas después de su estimulación por mediadores inflamatorios como IL-1 o FNT-alfa y mediante uniones de neutrófilos y monocitos a la superficie de las células endoteliales.
- ? P-selectina, o proteína 140 granular de membrana, se almacena en los gránulos alfa de las plaquetas o en las células endoteliales constituyendo los cuerpos de Weibel-Palade, puede movilizarse rápidamente a la superficie después de la estimulación por productos de la cascada de la coagulación como trombina y mediadores de adhesión de neutrófilos y monocitos.

## Sistema de la coagulación.

La cascada de la coagulación permanece como uno de los mayores acoples naturales en el mantenimiento de la hemostasis. Esta cascada ha sido bien estudiada, y está demostrado que puede ser activada tanto por vía intrínseca, como extrínseca. Las plaquetas también contribuyen a la hemostasis mediante la síntesis de tromboxano A<sub>2</sub> (el cual atrae plaquetas adicionales), liberando factor XIII y alfa 2 antiplasmina y convirtiendo muchos zimógenos y factores de la coagulación sobre su superficie celular.

No está claro cómo la coagulación puede activarse en la sepsis. Posiblemente pueda resultar de la activación directa por endotoxinas, a través de mediadores con efectos procoagulantes como FNT-alfa o IL-1, o a través de factores específicos como el factor de permeabilidad vascular. Además las endotoxinas inducen un daño inflamatorio sobre el endotelio que expone las fibras de colágenas al torrente inflamatorio y promueven por tanto la adhesión de las plaquetas y la activación subsecuente del factor XII. La exposición de la sangre a los factores tisulares ha sido sugerida como la causa primaria de la coagulación intravascular seguida a la administración de endotoxinas.

En pacientes sépticos, especialmente en shock, se reduce el nivel de numerosos factores de la coagulación. La concentración de factor XII y precalicreina, frecuentemente se encuentra por debajo del 50%, y su concentración se correlaciona directamente con la presión arterial media. Estos niveles bajos, probablemente reflejen la conversión de factor XII y precalicreina a sus formas activas, y por tanto indican la activación del sistema por contacto. La generación de trombina y fibrina, una característica de la coagulación intravascular, se encuentra con frecuencia aumentada en pacientes con sepsis. Estos pacientes presentan altos niveles de factor VIII y XIII, además de niveles reducidos de inhibidores de la coagulación. Estos hallazgos, han sido estudiados recientemente con el objetivo de atenuar el estado protrombínico presente en la sepsis.

## Sistema del complemento.

La concentración de complemento circulante se encuentra incrementada en pacientes con sepsis. En pacientes sépticos, la estimulación del sistema del complemento ocurre por la estimulación de endotoxinas o la liberación de FNT-alfa. La activación del complemento causa degranulación de los mastocitos, y puede mediar la estimulación de endotoxinas para la liberación de tromboxano A<sub>2</sub> y prostaglandina I<sub>2</sub>. Además, los fragmentos

del complemento C5a inducen trasudación capilar y estimulan la activación, migración, adherencia y agregación de los PMN. Pacientes con distress respiratorio del adulto (ARDS), presenta deficiencia funcional en el inhibidor C5a conocido como “factor inactivador quimiotáctico”.

#### Productos fosfolipídicos.

El factor activador plaquetario FAP, es una fosfolipasa A2 fosfolípido sensitiva, formado a partir de un precursor inactivo unido a las membranas celulares. Puede ser liberado por macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células endoteliales y por las propias plaquetas. Una vez liberado, el FAP resulta un potente mediador de la isquemia y el shock y posee efectos marcados sobre la permeabilidad vascular. Como resultado, se produce escape fuera de la microcirculación de líquido, incrementándose el daño celular y la inestabilidad hemodinámica.

Otras características del FNT, incluyen efectos inotrópicos negativos sobre el corazón y marcada disminución de la presión arterial. Otra secuela de la liberación de FAP, es la agregación de plaquetas y la formación de trombosis, así como la activación de leucocitos y la formación subsecuente de radicales libres. El FAP también puede producir broncoconstricción, incrementar la resistencia de la vía aérea e hipertensión pulmonar.

#### Derivados del ácido araquidónico.

Los tres derivados principales del ácido araquidónico (tromboxano A<sub>2</sub>, prostaglandinas y leucotrienos), influyen sobre la respuesta fisiológica tanto de los tejidos del huésped como de las células inflamatorias. TxA<sub>2</sub> y las prostaglandinas son liberados por vía de la cicloxigenasa, mientras que los leucotrienos se liberan por vía de la lipoxigenasa. El TxA<sub>2</sub> causa agregación de las plaquetas, acumulación de neutrófilos, e incremento de la permeabilidad vascular, además de vasoconstricción de los lechos vasculares y broncoconstricción pulmonar. La concentración plasmática de TxB<sub>2</sub> (el producto inactivo final), se correlaciona directamente con la severidad del fallo multiórgano y mortalidad en pacientes con sepsis por organismos Gram negativos. En modelos animales, los leucotrienos C<sub>4</sub> y D<sub>4</sub> aumentan la permeabilidad vascular pulmonar. Las prostaglandinas E<sub>1</sub> e I<sub>2</sub>, resultan beneficiosas en la sepsis al inducir vasodilatación, reducir la actividad procoagulante y mejorar la oxigenación tisular en órganos críticos.

## ***INJURIA PULMONAR EN LA SEPSIS. BASES MOLECULARES***

### **LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES (PMNS):**

Los leucocitos polimorfonucleares son las células con mayor participación en las diferentes formas de daño pulmonar. Esto no es sorprendente debido a su alto contenido en proteasas y su capacidad de generar oxidantes.

Los neutrófilos son activados tanto por quimiotaxis como por fagocitosis. En dependencia del estímulo, pueden ocurrir uno o más respuestas funcionales específicas como parte del acoplamiento estímulo-respuesta. Estas funciones incluyen adhesión, agregación, fagocitosis, degranulación, activación de NADPH oxidasa, liberación de proteasas lisosomales y producción de metabolitos del ácido araquidónico.

Los leucocitos polimorfonucleares utilizan un mecanismo bioquímico general encontrado en muchos tipos celulares para el acoplamiento estímulo-respuesta. Después de unirse a receptores específicos de la membrana plasmática, son activadas las proteínas reguladoras guaninín-nucleótidos. En consecuencia se activa la fosfolipasa C y se produce un incremento en la producción de inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG) productos metabólicos de los fosfoinositoles. El incremento de los niveles de DAG, activa la proteinkinasa C. Simultáneamente los niveles de calcio libre intracelular aumentan en respuesta al incremento de IP3, y se activa la fosfolipasa A<sub>2</sub>. La fosfatidilcolina subsecuentemente es metabolizada a ácido araquidónico y lisofosfatidilcolina. El resultado es un incremento en la síntesis de los productos de cicloxigenasa y lipoxigenasa. Esta última conduce además al incremento de Factor Activador Plaquetario (FAP). El FAP posee una amplia variedad de funciones. Produce la agregación de plaquetas y PMNs, aumenta la síntesis y secreción de una gran variedad de metabolitos del ácido araquidónico, así como vasodilatación y contracción del músculo liso.

Los productos específicos generados por el ácido araquidónico están en función del tipo celular. En los polimorfonucleares predomina la formación de LTB<sub>4</sub>; mientras que en los mastocitos degradados, predominan, las prostaglandinas PGD<sub>2</sub> y PGE<sub>4</sub>, los leucotrienos LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub>. La activación de los macrófagos genera una amplia variedad de metabolitos del ácido araquidónico predominando TTB<sub>4</sub>, PGE<sub>2</sub> y TxA<sub>2</sub>.



## Neutrófilos circulantes y penetración en el pulmón.

La mayoría de los neutrófilos circulantes se encuentran en estado no activo. El proceso de penetración y retención de polimorfonucleares en el pulmón constituye un paso importante en la injuria pulmonar. Los PMNs normales pasan a través del pulmón como un vuelo rasante (hopping), y permanecen más tiempo en contacto con el endotelio pulmonar que el habitual en otros lechos vasculares. Existe una gran variación en el tiempo de tránsito de los PMNs a través del lecho vascular pulmonar. El diámetro promedio de un PMNs (8 micras), resulta mayor que el de un capilar pulmonar (5 micras), por tal motivo para moverse requiere deformarse. El incremento del tiempo de residencia de los PMNs en los capilares pulmonares se cree originado por sus bajas presiones en relación con la vasculatura sistémica. En estados inflamatorios, el flujo circulatorio pulmonar y la penetración de PMNs resulta regulado por la vasoconstricción pulmonar hipóxica y los mediadores locales como prostaglandinas. Un pequeño porcentaje de PMNs es retenido creando un pool marginado dentro de los capilares pulmonares.

## Activación de leucocitos polimorfonucleares.

Los neutrófilos pueden activarse por una gran variedad de moléculas que incluyen lipopolisacáridos (LPS o endotoxinas), C5a, y PMA. Los leucocitos pueden desarrollar de forma transitoria estados de hiperreactividad a pequeñas concentraciones de estímulos adicionales. Primeramente ocurre después de la exposición a concentraciones muy pequeñas de muchos de los mismos estímulos incluyendo PLS, C5a, fMLP, PMA, FAP, factor estimulador de colonias de granulocito-macrófago y calcio ionóforo. Cuando los PMNs circulantes resultan estimulados, ellos se adhieren a los capilares pulmonares por largos períodos de tiempo. Cuando se inicia un proceso inflamatorio localizado en los pulmones los PMNs pueden migrar al pulmón antes de ser estimulados y activados. Esta particularidad puede proteger el pulmón contra el daño producido por la liberación de grandes cantidades de proteasas y oxidantes durante la migración.

Con la activación por quimioatracción, se vuelven más rígidos debido a cambios en su citoesqueleto. El resultado final es una disminución en la desformabilidad y un incremento del tiempo de contacto con el endotelio pulmonar. En perros, después de la administración intravenosa de fragmentos de complemento los PMNs son retenidos en la circulación pulmonar segundos después. En otros lechos vasculares, los PMNs activados, usualmente se adhieren a las venas postcapilares y entonces migran a los tejidos. La superficie de adhesión de los PMNs a proteínas se incrementa rápidamente por la acción de varias moléculas incluyendo C5a,

FNT, IL-1 y LPS. Como resultado del incremento del tiempo de los neutrófilos en los capilares pulmonares y el incremento de la expresión de las células endoteliales, se produce la adherencia de los PMNs. Aunque quizás el aumento del contacto PMN-endotelio solamente no resulte suficiente para producir daño pulmonar.

El interés en el daño del endotelio pulmonar producido por PMN, se opone a las observaciones de que la hemodiálisis induce hipoxemia, agregación de PMN, leucopenia periférica y adherencia de los PMN dentro del lecho vascular pulmonar. Estudios experimentales sugieren que la agregación puede iniciarse por activación del complemento. En contraste con los estudios más recientes, la agregación de PMN resulta probablemente del secuestro dentro de las arteriolas pulmonares más bien que en los capilares.

### Adherencia de los PMNs al endotelio

Los agregados de PMNs adheridos a la superficie luminal de las células endoteliales producen su taponamiento y daño mediante la liberación de proteasas y oxidantes. La adhesión de los neutrófilos se cree un componente del daño pulmonar en situaciones de isquemia seguida de reperfusión, como en el infarto del miocardio, el trasplante de órganos, las grandes quemaduras y los accidentes vasculares. La agregación de los PMNs ocurre a través de la interacción específica de las proteínas plasmáticas sobre los PMNs y las células endoteliales.

La membrana de los leucocitos posee receptores de integrinas que son miembros de la superfamilia de Moléculas de Adhesión celular endotelio-lectina (LEC-CAMs). Las tres integrinas más importantes de los PMNs, LFA-1, Mac-1 (también conocida como Mo 1, o CR3), y p150 95; son todas de la subclase beta2, porque cada dímero de integrina contiene un péptido beta2 o CD 18. Ellas difieren en la subunidad alfa o CD11. LFA-1 está presente en todos los leucocitos y posee una subunidad alfa o CD 11. Mac-1 y p150 95 contienen subunidades alfa-M y alfa X (CD11c), respectivamente. Su distribución está limitada a los fagocitos y las células T natural Killer. Los pacientes con deficiencia genética de esta proteína de adhesión, presentan susceptibilidad aumentada a las infecciones a pesar de poseer un número normal de linfocitos, e inmunidad celular normal, incluyendo la movilización de leucocitos a áreas de infección. Sus PMNs carecen de su capacidad de agregarse y adherirse a las células endoteliales y de migrar a los sitios de infección después de una estimulación apropiada. De igual forma, la administración de anticuerpos dirigidos contra estas integrinas, inhibe la migración de neutrófilos dentro de los tejidos inflamados.

Las células endoteliales producen sustancias que inhiben la adhesión de neutrófilos como las prostaciclina. Ellas también pueden convertir el

adenosin-5´trifosfato intracelular y el adenosin 5´-difosfato a adenosina, que inhibe la función de los neutrófilos sobre el endotelio por estímulo de los PMNs y puede liberar una sustancia que inhibe la producción de superóxidos.

La cantidad de integrinas en los PMNs y de ICAMs o VCAM-1 en las células endoteliales puede incrementarse por la acción de diferentes mediadores, incluyendo FNT, IL-1, endotoxina o trombina. Los niveles de VCAM-1 También se incrementan por la acción de los oxidantes. Por lo tanto en los estados de injuria con niveles aumentados de citokinas y otros mediadores (como en el SIRS), tanto las células endoteliales, como la superficie celular de los neutrófilos, pueden expresar un aumento de la cantidad de moléculas proadhesivas. Es muy probable que la adhesión de los neutrófilos activados, sea un importante paso en muchas formas de daño tisular.

El uso de anticuerpos monoclonales contra las proteínas de adhesión puede ser beneficioso en prevenir o tratar diferentes tipos de daño de órganos. Aunque estos anticuerpos tienen la potencia de inhibir la capacidad de los neutrófilos de responder a infecciones localizadas y pueden conducir a un incremento de infecciones secundarias. Este efecto secundario potencial puede ser perjudicial y debe ser cuidadosamente evaluado.

### Quimiotaxis de los leucocitos polimorfonucleares

Los neutrófilos son responsables de muchas quimiotaxinas, incluyendo C5a, LTB<sub>4</sub>, IL-8, PDGF, activador del plasminógeno, FNT-alfa, complejo NE-alfa1 PI, fibrinopéptido B y pequeños péptidos formilados (formylated fMLP). Los PMNs siguen los gradientes de concentración de estas sustancias.

La migración de los neutrófilos resulta regulada por múltiples factores, incluyendo la permeabilidad vascular, el grado de activación de los PMNs y el estado del endotelio. Resulta interesante que la exposición de los PMNs a los oxidantes, disminuye la respuesta a las quimiotaxinas. Las citokinas como FNT e IL-1, aceleran la migración transendotelial.

Los neutrófilos cruzan el endotelio pulmonar a lo largo de la parte engrosada de la pared alveolar y probablemente no produzcan daño durante su migración. Ellos cruzan in vitro las monocapas (monolayers) endoteliales sin estímulos, pero no las monocapas de otros tipos celulares. Esta migración transendotelial, puede ser potenciada por ICAM-1 y PECAM-1.

Los neutrófilos no cruzan fácilmente las membranas basales. La liberación local de proteasas que destruye algunos componentes de la membrana basal, se requieren para su paso.

Los estudios experimentales indican que los PMNs cruzan el epitelio alveolar moviéndose a través de las uniones intercelulares. Es incierto si este movimiento causa daño epitelial o no. En carneros anestesiados no se ha demostrado daño persistente, pero hay daño evidente cuando los PMNs aislados cruzan las monocapas de los pneumocitos tipo II in vitro. Aunque quizás, como veremos luego, este daño se debe al contacto prolongado que sigue a la injuria y no a la migración por sí misma.

Injuria celular inducida por leucocitos polimorfonucleares.

La migración de los leucocitos hacia los pulmones es un componente esencial de la respuesta del huésped normal contra la infección y las sustancias extrañas. Esto puede ocurrir sin que necesariamente cause ningún daño. Este tipo de respuesta inflamatoria no siempre implica daño.

Una vez en el espacio alveolar los PMNs se activan rápidamente. Los macrófagos residentes producen citokinas que sostienen e incrementan la activación de los neutrófilos. Se presume que los pneumocitos tipo I, son muy sensibles al daño por neutrófilos.

En cultivos de células pulmonares aisladas, la activación de los neutrófilos produce daño o lisis celular. Los PMNs activos producen daño de los pneumocitos tipo II. Esto ocurre debido a la producción por los polimorfonucleares de oxidantes diferentes de  $H_2O_2$ . Este proceso requiere de la adhesión de los neutrófilos a los pneumocitos tipo II, debido a que la administración de anticuerpos dirigidos contra las integrinas beta 2 de la superficie celular de los PMNs reduce la citotoxicidad. En un segundo estudio, se produjo daño celular no letal contra los pneumocitos tipo II principalmente por neutrófilos y otras proteasas neutrales. Con escasa participación de oxidantes y proteasas ácidas.

Los gránulos azurófilos de los neutrófilos contienen una alta densidad de tres péptidos microbicidas pequeños, llamados defensinas. Ellos son liberados tanto por estímulos solubles como particulados al tiempo de la muerte celular de los PMNs. Las defensinas resultan citotóxicas para los fibroblastos y las células epiteliales pulmonares y constituyen un mecanismo adicional mediante el cual los neutrófilos inducen daño celular en adición a proteasas y oxidantes.

Las células endoteliales también resultan dañadas por los neutrófilos activados in vitro. El daño producido por los PMNs en algunos experimentos resulta mediado por oxidantes, pero también puede ser producido por elastasas. En la mayoría de los experimentos  $H_2O_2$  resulta más deletéreo que los superóxidos. Como ya se ha analizado, la XO celular endotelial también se incrementa y conduce a un aumento de superóxidos y secundariamente de radicales hidroxilos.

Leucocitos polimorfonucleares en el distress respiratorio del adulto.

Esta demostrado la producción por parte de los PMN de proteasas y oxidantes dentro del espacio alveolar. Aunque la producción de oxidantes, la respuesta quimiotáctica y la muerte de microorganismos por PMNs en el líquido de lavado bronquial de pacientes distresados se encuentra disminuida. Esto resulta un indicador de que los PMNs liberan sus productos y no pueden regenerarlos rápidamente o que han sido dañados por los oxidantes. Esto sería una buena explicación para la alta incidencia de neumonías y sepsis en pacientes distresados.

Un elevado número de activadores de los PMN en el plasma y líquido broncoalveolar de pacientes con ARDS, incluyen FNT, fragmentos de complemento activado, LTB 4 y en ocasiones endotoxinas. Aunque muchos de estos compuestos se presentan en igual concentración en pacientes con alto riesgo de ARDS en los cuales el síndrome clínico aún no se ha presentado. El líquido de lavado bronquial de pacientes con ARDS contiene factores lipídicos y no lipídicos que resultan quimiotácticos para PMNs. Los macrófagos alveolares aislado de líquido de lavado bronquial de pacientes con ARDS, produce factores quimiotácticos in vitro y es muy probable que también ellos sean los responsables de la producción de muchos de los factores quimiotácticos in vivo.

## MACRÓFAGOS.

La demostración de ARDS en pacientes neutropénicos en los cuales no se puede demostrar PMNs en los pulmones, demuestra que el daño pulmonar no siempre es producido por la actividad de los PMNs. Los macrófagos residen dentro de los alvéolos y están situados estratégicamente para responder a los estímulos con la producción precoz de proteasas, oxidantes y otros mediadores. Al igual que los PMNs esta respuesta resulta de suma importancia en las defensas del huésped.

Es muy probable que los macrófagos puedan tanto iniciar como amplificar el daño celular. Los macrófagos activados incrementa la permeabilidad vascular de las células endoteliales sin destruirlas. Esta acción probablemente se deba a la acción de proteasas u oxidantes. Los macrófagos también producen una variedad de citokinas, procoagulantes y factores de crecimiento. Después de estimulados ellos incrementan su elaboración de productos de la cicloxigenasa y la lipoxigenasa, especialmente LTB4. La exposición de sujetos normales a concentraciones de oxígeno del 50% por 44 horas, produce un aumento de los productos de los macrófagos alveolares y un aumento de la concentración de LTB4 en el líquido del lavado bronquial. Los macrófagos estimulados producen una gran variedad de citokinas que pueden actuar como quimiotaxinas, activar otras células vecinas o dañarlas. Los macrófagos alveolares de pacientes con ARDS liberan una gran cantidad de FNT-alfa, los cuales estimulan la expresión de IL-8. También liberan una gran cantidad de fibronectina, que resulta otra quimiotaxina de neutrófilos. Aunque todas estas actividades han sido bien documentadas in vitro, su significación in vivo no está bien definida. Esta también claro, que estos elementos proinflamatorios, son cuidadosamente contrabalanceados por factores que previenen una respuesta inflamatoria inapropiada. Por ejemplo, la producción de MIP-I alfa, puede ser inhibida por IL-4. Todavía queda mucho que investigar acerca del complejo trabajo de las citokinas y sus efectos en la inflamación.

## EOSINÓFILOS

Los eosinófilos constituyen otros tipos celulares producidos por la médula ósea, responsables en los pulmones de diferentes procesos patológicos. Su desarrollo resulta estimulado por las citokinas IL-3, IL-5 y GM-CSF. Poseen receptores en la superficie celular para inmunoglobulinas y complemento. Al igual que otras células inflamatorias, ellos producen proteasas y oxidantes; y otras formas particulares de originar daño celular. La vida media de los neutrófilos circulantes es sólo de días, y cuando penetran en los tejidos pueden sobrevivir por más de una semana. Antes de abandonar la médula ósea, su longevidad y estado de activación puede incrementarse por las mismas citokinas que causan eritropoyesis.

La presencia de gránulos citoplasmáticos es una característica de los eosinófilos. Estos gránulos poseen un núcleo rico en proteínas básicas mayores (PBM), péptidos que inicialmente fueron considerados promoléculas grandes. PBM, resulta tóxico para parásitos y diferentes tipos celulares de mamíferos especialmente las células del epitelio respiratorio. Esto causa liberación de histamina por los macrófagos y puede neutralizar

la acción anticoagulante de la heparina. La matriz central contiene algunas importantes proteínas. La proteína catiónica de eosinófilos, es un polipéptido con débil actividad de ribonucleasa. Resulta diez veces más tóxico para los esquistosomas que las PBM. También inhibe la proliferación de linfocitos y neutraliza la heparina. La peroxidasa de los eosinófilos (EPO), esta relacionada con la OPM de los PMNs y resulta un miembro de la multigénica familia de las peroxidases. Ellos utilizan H<sub>2</sub>O y sales haloideas (especialmente bromuro), para generar ácido hipohalous. Mediante este mecanismo los eosinófilos pueden matar parásitos, células tumorales y células cebadas. En algunas ocasiones los OPE se une a su superficie y genera concentraciones locales altas de oxidantes. Los OPE también estimulan la degranulación de las células cebadas (mast cell) y la producción de histamina.

Los eosinófilos poseen otras armas biológicas. En primer lugar se encuentran un grupo de enzimas que incluyen la colagenasa y la arilsulfatasa B, además poseen lisofosfolipasa en los pequeños gránulos citoplasmáticos y posiblemente en la membrana celular. Ellos forman parte de los cristales de Charcot-Leyden en la luz bronquial de pacientes asmáticos. En tercer lugar, los eosinófilos pueden generar una gran cantidad de FAP. Como retroalimentación, a su vez el FAP puede activar a los eosinófilos e incrementar su producción de LTC<sub>4</sub>. Las moléculas de LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub> actúan como parte del complejo de "sustancias de reacción lenta de la anafilaxia" y causan broncoconstricción y aumento de la permeabilidad vascular sostenido. Finalmente, ellos también liberan sustancia P, otro potente vasodilatador y broncoconstrictor.

Los eosinófilos poseen motilidad al igual que los PMNs y los macrófagos. Dentro de las quimiotaxinas se incluyen, histamina, C5a, factor anafiláctico quimiotáctico de eosinófilos (ECF-A), LTB<sub>4</sub>, monocitos y productos de los linfocitos. Dentro de este gran grupo de quimiotaxinas, el FAP resulta particularmente potente. La degranulación de los eosinófilos ocurre cuando se estimulan receptores (mediante ligandos) específicos de la superficie celular por IgG, IgE, C3 y especialmente IgA. La activación de los eosinófilos se estimula por IL-5, GM-CSF e IL-3.

La activación de los eosinófilos actúa sobre los cultivos de células pulmonares produciendo daño y su actividad es más manifiesta sobre fibroblastos, células epiteliales y células mesoteliales. Por ejemplo, eosinófilos estimulados intactos causan separación no lítica de los pneumocitos en los substratos de cultivos. Las enzimas lisosomales de los eosinófilos usualmente causan separación mientras que PBM purificados y ciertos sistemas de generación ácida de hipohalous causan lisis celular. En

ciertas situaciones los eosinófilos pueden adherirse a los fibroblastos y estimular su replicación in vitro. Por tanto se consideran activadores de la fibrogénesis. Subsecuentemente, los fibroblastos pueden producir GM-CSF y por tanto aumentar la longevidad y la activación de los eosinófilos. En los pulmones los eosinófilos aumentan la permeabilidad vascular transitoriamente y la presión arterial en la vía aérea.

Los pulmones incrementan la cantidad de eosinófilos en un gran número de estados patológicos especialmente enfermedades inmunológicas y por hipersensibilidad. Su role en el asma resulta particularmente importante. En particular las proteínas con carga PMB y PCE desempeña un role protagónico al dañar el epitelio bronquial y por tanto permitir que el antígeno penetre en el tejido linfoide y sensibilicen las terminaciones nerviosas de la submucosa. Los niveles de PMB se encuentran elevados en el esputo de los pacientes asmáticos y también puede encontrarse en sitios de daño celular.

Recientemente se ha descrito la participación de los eosinófilos en diferentes situaciones clínicas de insuficiencia respiratoria aguda y crónica. El líquido de lavado bronquial de los pacientes con ARDS, en ocasiones presenta un importante número de eosinófilos y PCE. Aunque su significación es incierta, se cree que juegan un role similar a los PMNs en el daño celular. Algunos pacientes con IPF poseen además un aumento en el porcentaje de eosinófilos y un incremento en la concentración de PCE en el líquido de lavado alveolar. Los niveles de PCE en líquido de lavado alveolar se correlacionan bien con los niveles de OPM, como en el ARDS. Finalmente, existe un gran número de síndromes clínicos caracterizados por la infiltración pulmonar de gran número de eosinófilos tanto en el parénquima pulmonar como en el líquido de lavado bronquial; como la neumonía eosinofílica crónica de Carrington, la aspergilosis broncopulmonar alérgica, las neumonitis por hipersensibilidad, la eosinofilia pulmonar tropical y el síndrome de Loffler. Recientemente se ha descrito una forma rápidamente progresiva de neumonitis eosinofílica. En todas estas entidades es muy probable que los eosinófilos tengan una amplia participación en el daño pulmonar.

## PLAQUETAS.

Además de las funciones en la coagulación, las plaquetas poseen otras funciones muy importantes. En términos de daño pulmonar, pueden liberar un gran número de sustancias que causan vasoconstricción, incremento de la permeabilidad vascular y reclutamiento de células inflamatorias. Ellas



también interactúan con otros elementos de la coagulación para producir daño pulmonar.

Las plaquetas contienen gránulos alfa, gránulos densos y lisosomas. Pueden generar una gran cantidad de mediadores lipídicos, incluyendo endoperoxidasas (PGF<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>), tromboxanos, hidroxiaácido 12 de la vía de la lipoxigenasa y FAP. Los gránulos alfa contienen factores de crecimiento (PDGF, factor de crecimiento transformante (FGT), y factor de crecimiento epidérmico (FCE), factor plaquetario 4, proteínas de coagulación, fibrinonectina y proteasas. Los gránulos densos contienen calcio, serotonina, ATP, ADP, guanosín 5' trifosfato (GTP) y guanosín 5'difosfato (GDP).

Al inicio del ARDS, se observa trombocitopenia en al menos la mitad de los pacientes. Las biopsias pulmonares muestran algunas plaquetas secuestradas en la microcirculación, y otras que migran dentro del parénquima. Simultáneamente las plaquetas son también atrapadas en el hígado y el bazo. Las plaquetas de pacientes con ARDS presentan niveles aumentados de proteínas en la superficie celular, lo cual indica activación. La glicoproteína de la membrana plasmática (GMP-140), se expresa también en cantidades muy incrementadas. Los factores que potencian la agregación plaquetaria durante el ARDS incluyen: ADP, colágena tisular, endoperoxidasa, factor de von Willebrand, endotoxinas, complejos inmunes, FAP, serotonina, trombina, depósitos de fibrina intravascular e hipoxia.

Las plaquetas también participan en la hipertensión pulmonar temprana que ocurre en el daño pulmonar. Esto probablemente se deba a que ellas liberan cantidades importantes de tromboxano A<sub>2</sub>, endoperoxidasas y leucotrienos. Aunque no está establecido que estas sustancias se originen predominantemente en las plaquetas. La magnitud de la hipertensión pulmonar disminuye significativamente en animales de experimentación plaquetopénicos. Aunque los inhibidores de la tromboxano sintetasa no alteran el curso del daño pulmonar. La serotonina también juega un role importante en la hipertensión pulmonar y los bloqueadores de su captación como ketanserina, disminuyen la misma.

Las plaquetas interactúan con otras muchas células durante el daño pulmonar. Ellas estimulan la quimiotaxis de los PMNs, su activación y degranulación. La quimiotaxis y activación de los neutrófilos resulta potenciada por TxA<sub>2</sub>, serotonina, araquidonato y ácido 12 dihidroxieicosatetraenoico (12-HETE) derivados de las plaquetas. El 12-

HETE es también bioconvertido por los PMN a otros leucotrienos proinflamatorios. El factor plaquetario 4 resulta quimiotáctico para PMNs y los estimula a liberar las enzimas lisosomales y adherirse a las superficies. De forma recíproca, PMNs los liberan  $\text{TxA}_2$ , leucotrienos y FAP que activa a la plaqueta. Las células endoteliales bioconvierten los derivados plaquetarios  $\text{PGG}_2$  y  $\text{PGH}_2$  a  $\text{PGI}_2$ . El factor de crecimiento derivado de la plaqueta, EGF y TGF de las plaquetas estimulan el crecimiento de fibroblastos y células endoteliales.

No todos los efectos de las plaquetas producen daño celular. Las plaquetas contienen antioxidantes (particularmente glutatión) y consecuentemente elimina los oxidantes. La serotonina derivada de las plaquetas, contribuye a la resistencia normal de las estructuras fibrilares que actúan como filamentos dentro de las células endoteliales y mantienen la integridad de las monolayer de la barrera.

Dado el gran número actualmente disponibles de agentes antiplaquetas no tóxicos, determinar la utilidad de su uso en el daño celular pulmonar resulta una importante tarea.

## OTRAS CÉLULAS.

Los basófilos y los mastocitos juegan un papel determinante en las enfermedades alérgicas del pulmón. Ambos tipos de células poseen en sus membranas plasmáticas receptores de IgE, y cuando resultan activados al unirse a esta gammaglobulina secretan histamina y otras sustancias vasoactivas.

### Basófilos.

Los basófilos constituyen una pequeña fracción de los leucocitos circulantes, aproximadamente del 0.5 al 1%. Ellos al igual que los eosinófilos son derivados de la misma célula precursora, Stem cell, y su generación resulta estimulada por la combinación de IL-3 y GM-CSF. En su superficie celular existen moléculas de HLA clase 1, antígenos CD11 Y CD18 y el antígeno común a los leucocitos CD 45, pero muy escasos receptores para IgG Fc. Tanto los basófilos como los mastocitos poseen receptores altamente afines por la porción FGc de la IgE.

Después de estimuladas por antígenos específicos que reaccionan con IgE, se incrementa la quimiotaxis y adherencia de los basófilos a las células endoteliales. La superficie celular móvil y libre del complejo-receptor IgE-

IgE Fc se entrecruzan y ligan con antígenos y estimulan la secreción de gránulos específicos. Esta respuesta puede desencadenarse con la estimulación de sólo un escaso número de receptores. Aunque, los basófilos de individuos diferentes poseen un amplio rango de sensibilidad a la cantidad de uniones cruzadas (cross-linked) de IgE. La secreción también puede ser estimulada por otros activadores de PMN, incluyendo fMLP, C3a, C5a y el no bien definido “factor liberador de histamina”. Algunos de estos factores de histamina requieren de IgE de superficie celular para iniciar su secreción.

Los basófilos estimulados secretan tanto mediadores preformados contenidos dentro de sus gránulos como mediadores recién sintetizados. Los gránulos contienen histamina, una matriz de proteoglicano y enzimas. GM-CSF, incrementa la síntesis de histamina. La histamina produce extravasación de líquido, debido a que produce constricción de las vénulas postcapilares y dilatación arteriolar precapilar. Después de su estimulación, leucotrieno C<sub>4</sub>, es resintetizado y liberado provocando constricción del músculo liso. A diferencia de los mastocitos, los basófilos no liberan PGD<sub>2</sub> u otras prostaglandinas. La secreción de los basófilos se inhibe por factores que incrementan la concentración intracelular de AMPc, como agonistas beta, PGE<sub>2</sub>, teofilina y glucocorticoides. Entre los factores que estimulan la secreción de los basófilos se encuentran la IL-3, IFN-gamma y en menor cuantía IL-2.

Los macrófagos emigran dentro de los tejidos inflamados. Ellos se encuentran en gran número en la nariz de pacientes con rinitis, en la piel durante la urticaria o dermatitis por contacto y en los pulmones de pacientes asmáticos. Se cree que ellos actúan en todas estas situaciones durante la fase tardía de la reacción alérgica.

### Mast Cells (mastocitos)

Inicialmente se pensó que ellos eran altamente nutritivos para las células del tejido conectivo, de allí su nombre derivado de la palabra alemana con este significado. Aunque su forma es variable, sus gránulos citoplasmáticos resultan su principal característica morfológica. Ellos se encuentran en tejidos con interfase con el medio interno, y en los humanos se encuentran en altas concentraciones en las paredes alveolares y alrededor de los vasos sanguíneos. Hay una gran heterogeneidad en los mastocitos. Los mastocitos de la mucosa son linfocito T dependiente para su maduración, los mismos sintetizan cantidades significativas de heparina y cuando son estimulados producen LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y PGD, ellos predominan en los alvéolos. Los

mastocitos del tejido conectivo no necesitan para su maduración de los linfocitos T y sintetizan fundamentalmente condroitín-sulfato proteoglicanos y poseen enzimas kinasas y triptasas.

Los estímulos para la degranulación de los mastocitos incluyen C3a o C5a, venenos de abeja y la unión (cross-linking) de IgE a su superficie. Los mastocitos poseen un arsenal de mediadores preformados que incluyen histamina, serotonina (en roedores, pero no en humanos), heparina, condroitín sulfato proteoglicanos y proteasas neutrales. Estas sustancias son responsables de la respuesta de hipersensibilidad inmediata que ocurre después de la unión de la IgE a la superficie celular de los mastocitos. La histamina se une a los receptores H<sub>1</sub> y produce vasoconstricción, vasodilatación arteriolar, broncoconstricción e incremento de la permeabilidad vascular. Además de estimular la secreción gástrica, los receptores H<sub>2</sub> median otros efectos, incluyendo aumento de la permeabilidad epitelial, supresión de la función de los linfocitos T y decrecimiento en la producción de mediadores por los PMN, basófilos y células T. Se desconoce el verdadero role de los proteoglicanos, pero se cree son capaces de suprimir la cascada de la coagulación y del complemento.

Además de los mediadores preformados, los mastocitos estimulados liberan citokinas y nuevos mediadores derivados de la membrana lipídica. Los mastocitos pulmonares en los humanos, producen más LTC<sub>4</sub> y LTB<sub>4</sub> pero quizás menos PGD<sub>2</sub> que los mastocitos de la piel. En contraste con los basófilos, ellos no producen FNT. Los mastocitos de algunos animales también liberan FAP, interleukinas (de la 1 a la 6), FGT-beta, IFN-gamma y GM-CSF (no ocurre así en los humanos). Estas sustancias producen efectos similares a la histamina sobre los receptores H<sub>1</sub>, pero con mucha mayor duración. Además ellos estimulan la secreción bronquial de mucus.

Los mastocitos resultan de suma importancia en la fisiopatología del asma. Su concentración esta muy aumentada en los bronquios, alvéolos y luz bronquial de los pacientes asmáticos. Se pueden encontrar concentraciones muy aumentadas de triptasas e histamina en el líquido de lavado bronquial de pacientes asmáticos. En los mismos se produce además broncoconstricción en respuesta a la adenosina, sustancia que produce liberación de mediadores preformados en los mastocitos.

El papel de los mastocitos en otras enfermedades pulmonares está menos definido. Estudios recientes han demostrado que los mastocitos juegan un importante papel en las enfermedades pulmonares que cursan con fibrosis.

Los mastocitos con algunos gránulos residuales han sido descritos en el tejido conectivo junto a muchos fibroblastos en biopsias tomadas del intersticio o alvéolos pulmonares, en pacientes con sarcoidosis, pulmón del granjero, FPI, bronquiolitis obliterante e histiocitosis X. El número de mastocitos se correlaciona bien con el grado de fibrosis. Esta asociación más el hecho de que los mastocitos se encuentran degranulados sugiere que los mismos juegan un rol protagónico en la patogénia de estas enfermedades. Aunque quizás su presencia también pudiera resultar un producto de la fibrosis. Otros estudios en pacientes con fibrosis pulmonar por esclerodermia, han encontrado un incremento significativo de mastocitos en el líquido de lavado broncopulmonar, junto con niveles elevados de histamina y triptasas.

Mediadores liberados por los mastocitos en el proceso inflamatorio:

CLASE	MEDIADOR	EFEECTO
Preformados	Histamina	Vasodilatación Vasopermeabilidad Prurito, rinorrea broncoconstricción
	TNF-alfa	Regulación de la adhesión molecular.
	Proteasas	Vasodilatación Vasopermeabilidad Broncoconstricción
	Heparina	Desconocido
Derivados lipídicos	LTC 4	Vasodilatación Vasopermeabilidad Broncoconstricción
	LTB 4	Quimiotaxia leucocitaria.
	PGD 2	Vasodilatación Vasopermeabilidad Broncoconstricción Secreción mucosa
	PAF	Brococonstricción Quimiotaxia leucocitaria
Citokinas	TNF- alfa	Regulación de la adhesión molecular
	IL-1	Amplificación de la respuesta inflamatoria.
	IL-3	División de mastocitos

	IL-4	División de mastocitos Activación de linfocitos B Para producir IgE.
	IL-5	Diferenciación de eosinófilos Quimiotaxia
	IL-6	Diferenciación y crecimiento linfocitario
	IL-8	Quimiotaxia de leucocitos
	GM-CSF	Estimulación de neutrófilos, eosinófilos y macrófagos.
	MIP- 1 alfa	Quimiotaxia de linfocitos T monocitos y eosinófilos

## LINFOCITOS.

Al igual que en el resto del organismo, los linfocitos resultan esenciales para la respuesta inmune de los pulmones. Además, en muchas enfermedades pulmonares, el número de linfocitos, subtipos y funciones se encuentran alterados.

### Linfocitos T.

Funciones: en pulpa esplénica, ganglios linfáticos y tejido linfoide gastrointestinal:

1. Funciones reguladoras: modulan la producción de anticuerpos de los linfocitos B.
  - Función cooperadora.
  - Función supresora.
2. Función efectora:
  - Citotoxicidad: destrucción directa de antígenos sin participación de anticuerpos u otros factores humorales.
  - Hipersensibilidad retardada (linfocinas inflamatorias que actúan de muy

diversos modos produciendo activación de macrófagos, quimiotaxia de granulocitos y monocitos, y lisis de ciertas células dianas).  
 Producción de interleukinas 2 y 3.  
 Producción de factores de crecimiento celular.  
 Producción de interferón gamma.

Principales funciones de los linfocitos T:

<b>Función in vivo.</b>	<b>Correlación in vitro.</b>
1-Hipersensibilidad cutánea retardada	Producción de linfokinas
2-Rechazo de transplantes	citotoxicidad de células dianas alogénicas
3-Resistencia a la infección	Activación de macrófagos por linfokinas
4-Vigilancia tumoral	Citotoxicidad de las células tumorales por las células T y NK
5-Función cooperadora	Efecto en la síntesis de anticuerpos
6-Función supresora	Regulación de la síntesis de anticuerpos

Linfocitos B.

Funciones: en médula ósea y bazo.

1. Función reguladora: la capacidad de síntesis y secreción de los linfocitos B sólo puede ser comparadas con las células productoras de enzimas digestivas como las del páncreas exocrino en sus fases de máxima activación
2. Función efectora (producción de anticuerpos).

Otros mediadores.

Una gran cantidad de mediadores resultan de suma importancia en los diferentes tipos de daño pulmonar. Los mismos incluyen lipopolisacáridos bacterianos (endotoxinas), factores de la coagulación activados, citokinas, derivados lipídicos del ácido araquidónico. Muchos estudios utilizan inhibidores para demostrar la importancia de un mediador particular o vía metabólica, aunque, la mayoría de los mediadores no son del todo específicos. Otros estudios han demostrado concentraciones aumentadas de sustancias particulares en el plasma o líquido de lavado bronquial de

animales y humanos con enfermedades pulmonares. Debido a las múltiples interacciones de los mediadores y a la redundancia de los sistemas biológicos, resulta muy probable que cualquier que sea la anormalidad inicial, puede producir múltiples y rápidos cambios en muchos mediadores. Debido a esto, resulta simplista esperar que la identificación de un simple mediador, resulte de importancia primaria para cada tipo de enfermedad pulmonar. Igualmente, resulta poco probable que una vez iniciada la injuria, la inhibición de un solo sistema de mediadores prevenga daños ulteriores.

## INTERLEUKINAS.

### Citokinas:

Glucoproteínas de bajo peso molecular que son sintetizadas por células de diversos orígenes embriológicos distribuidas por toda la economía y resultan secretadas de forma transitoria y local.

El término citokina comprende linfokinas/monokinas/interleukinas, además de los interferones. Son muy potentes, exhibiendo sus acciones a concentraciones pico molares, uniéndose a receptores específicos de las membranas celulares. Pueden activarse sinérgicamente e inducen la liberación de otras citokinas o de sí mismas. Ejercen su acción mediante la regulación del crecimiento, movilidad, y diferenciación de linfocitos y otros tipos celulares. Poseen una amplia gama de efectos biológicos que las definen como los mediadores primarios de los cambios hemodinámicos, inmunológicos y metabólicos que se desencadenan en el SRIS, aunque son imprescindibles para la homeostasis frente a las agresiones externas, su actividad continua e incontrolada conllevan a un efecto deletéreo que puede conducir a la muerte del propio huésped.

Las interleukinas 1, 6, y 8 y posiblemente otras resultan de suma importancia en la patogénesis del daño pulmonar. La IL-1, causa fiebre e hipotensión, activa linfocitos T, incrementa la producción de IL-2, potencia la activación de PMN, estimula la producción de prostaglandinas por las células endoteliales, estimula la replicación de fibroblastos y la síntesis de colágeno e induce a reactantes agudos de fase. Aunque, las formas alfa y beta de los péptidos de IL-1, se originan de genes separados, ellos muestran igual equivalencia biológica. Los niveles de IL-1, se encuentran igualmente elevados en pacientes con ARDS y en aquellos con alto riesgo pero que aún no han desarrollado el síndrome. En pacientes con ARDS, los macrófagos producen niveles elevados de IL-1.



IL-2, ha sido empleada como un agente quimioterápico en el cáncer. Regularmente produce un síndrome clínicamente semejante al shock séptico. IL-2, también causa proliferación clonal de células T maduras en reposo, a través de estímulos autocrinos. Este complejo sistema es investigado en el ámbito molecular. Además, se sabe que es capaz de producir edema pulmonar no cardiogénico. Este efecto probablemente se deba a la activación de PMN combinado con el incremento de FNT como resultado de su producción por macrófagos estimulados.

Tanto los macrófagos, como los fibroblastos, producen IL-6. La cual resulta la llave reguladora de la respuesta inflamatoria. Ellos activan los linfocitos B, y también inducen las proteínas reactantes de fase aguda.

Los macrófagos alveolares liberan IL-8, una potente quimiotaxina para PMNs. También puede estimular la producción de proteasas por PMNs. Los pacientes con ARDS poseen niveles elevados de IL-8 en el líquido de lavado bronquial. En FPI, los macrófagos liberan grandes cantidades de IL-8.

Características y funciones de las principales Interleukinas (IL):

Interleukina 1:

La sintetizan muchas células pero sobre todo los macrófagos tras su estimulación antigénica. Su actividad biológica resulta similar al FNT, aunque se detecta mas tardíamente en el plasma por su tendencia a permanecer en el interior celular. Activa de forma solapada y sinérgica con el FNT, amplificando y autopercpetuando la respuesta inflamatoria.

IL-1 es un pirógeno endógeno por excelencia y existe gran expectativa para demostrar que el bloqueo específico de los receptores de IL-1, constituirá las bases del tratamiento futuro de las sepsis severa.

La IL-1, es un inhibidor autocrino del crecimiento celular, al unirse a los sitios de expresión del factor de crecimiento fibroblástico.

Interleukina 2:

Su producción se encuentra alterada en una gran cantidad de deficiencias incluyendo al SIDA, y enfermedades autoinmunes como el LES y la DM insulino dependiente. Su concentración también se encuentra elevada en la esclerosis múltiple, la pre-eclampsia y la insuficiencia renal crónica.

Interleukina 3:

Se desconoce si juegan algún role en la sepsis. En animales juegan un papel

protagónico en el crecimiento y diferenciación de los progenitores linfoides y hematopoyéticos.

Se acumulan datos a favor de su incremento en enfermedades alérgicas y hematológicas.

Interleukina 4:

Producida por los linfocitos T y B y los mastocitos, afectan la activación, diferenciación y proliferación de células linfoides y hematopoyéticas. Sus funciones no han sido bien establecidas.

Interleukina 5:

Ninguna condición clínica ha sido asociada con el exceso o deficiencia de esta Interleukina.

Interleukina 6:

Producida a partir de los fibroblastos, células endoteliales, monocitos y macrófagos inducidos por el FNT. No poseen actividad sobre el endotelio vascular por lo que no causan lesión tisular como la IL 1 y el FNT, su acción es estimular la producción de reactantes de fase aguda en el hígado. Probablemente sea idéntico al factor estimulante de hepatocitos FSH.

IL-6, esta relacionada con el estímulo de la diferenciación terminal de células beta, a células plasmáticas secretoras de inmunoglobulinas y se ha relacionado con las hiperglobulinemias y la producción de autoanticuerpos producidos por el mixoma cardíaco y el carcinoma de cuello uterino. Se encuentra elevada en la psoriasis y el líquido sinovial de la artritis reumatoide.

Interleukina 7:

Potente estimulante del crecimiento de las células pre-beta.

Interleukina 8:

Factor derivado de los monocitos, actualmente es reconocido como la proteína activadora de neutrófilos y el factor quimiotáxico de células T, contribuye a la activación de neutrófilos y células T, quimiotaxia y edema. A través de su capacidad de inhibir la adhesión de neutrófilos a las células endoteliales activadas por citocinas, la IL-8 atenúa el daño mediado por neutrófilos sobre las células endoteliales en los sitios de inflamación.

Interleukina 10:

Se considera una IL con actividad anti-inflamatoria (contrarregulación), posee actividades inhibitorias sobre los monocitos que incluyen disminución de la síntesis de otras citocinas y la formación de PGE<sub>2</sub>.

## Factor de Necrosis Tumoral.

Originalmente denominado “caquectina” por su capacidad de producir diferentes síndromes de emaciación está compuesto por dos tipos de proteínas (péptidos) estrechamente relacionadas. FNT mature (FNT-alfa) y linfotóxina (FNT-beta). Ambos resultan reconocidos por los mismos receptores de la superficie celular.

El FNT y la IL-1, producen muchas de las mismas respuestas proinflamatorias como fiebre, somnolencia, anorexia, movilización y activación de PMNs, inducción de las enzimas cicloxigenasa y lipoxigenasa, incremento en la expresión de moléculas de adhesión, activación de linfocitos T, linfocitos B y NK (Natural Killer) y producción de otras citocinas. Otras acciones de estos agentes probablemente contribuyan a la degeneración tisular y la fibrosis observados en la fase proliferativa de la inflamación crónica como la estimulación y proliferación de fibroblastos, la inducción de colagenasa, y la activación de osteoblastos y osteoclastos. Tanto la IL-1 como el FNT incrementan la expresión de muchos tipos de genes, probablemente por vía de la activación de factores de transcripción.

### Mecanismo de acción del FNT:

El FNT aparentemente actúa activando los ligandos de proteína G de los receptores de superficie celular. En la mayor parte de las situaciones la estimulación de estos receptores causa activación de las fosfolipasa C, D y A<sub>2</sub> las cuales catalizan la formación de fosfato de inositol, diacilglicerol y araquidonato respectivamente. Los araquidonatos liberados por el FNT, resultan subsecuentemente convertidos a prostaglandinas, TxA<sub>2</sub> y otros leucotrienos que resultan los mediadores de los efectos extracelulares del FNT.

El FNT también ejerce sus funciones sin abandonar el interior de la célula, como sucede en las células endoteliales. La acumulación de FNT intracelular se asocia con adhesión de neutrófilos a la superficie de las células endoteliales, debido a que el FNT activa la expresión o exposición de las proteínas de superficie que reconocen y se une a neutrófilos.

Durante la fase aguda del SRIS en el pulmón, el FNT es liberado por los macrófagos alveolares y monocitos después de su estimulación por muy diferentes sustancias dentro de las cuales se encuentran las endotoxinas. El FNT activa los PMN y los recluta dentro del pulmón.

El FNT se relaciona con muchas enfermedades de los pulmones. Cuando se infunde de forma intravenosa en animales de experimentación, induce un estado semejante al shock séptico, caracterizado por hipotensión, fiebre, hipoxemia, coagulopatías, trombocitopenia, necrosis intestinal hemorrágica, edema pulmonar y disminución de la perfusión renal. Estas observaciones sugieren su papel protagónico tanto en el shock séptico, como en el ARDS. La mayoría de los efectos sistémicos de la sepsis, se deben a los niveles aumentados de FNT. La premedicación de animales de experimentación con anticuerpos contra FNT antes de la infusión de bacterias, previene el shock séptico y la muerte. En los pacientes con sepsis, se desarrolla ARDS cuando se detectan niveles incrementados de FNT. El FNT, se detecta primero en el líquido de lavado bronquial y es menos común en plasma y resulta un predictor temprano del ARDS en pacientes sépticos. La célula de origen al menos en parte, es el macrófago. El pretratamiento de carneros con Ibuprofeno antes de la infusión de FNT, reduce la hipoxemia y la hipertensión pulmonar, lo cual sugiere que estos efectos son mediados por productos de la cicloxigenasa. Aunque el Ibuprofeno también puede proteger de la injuria pulmonar mediante el incremento de la quelación de hierro por la transferrina.

El FNT también ha sido implicado en la patogénia de la neumonía por hipersensibilidad en ratones. FNT e IL-1 se encuentran en cantidades apreciables en el líquido de lavado alveolar y los macrófagos alveolares liberan grandes cantidades de FNT-alfa. Los anticuerpos anti-FNT bloquean todos estos efectos incluyendo la fibrosis pulmonar.

FNT produce múltiples cambios en las células dianas. Incrementa la liberación de una gran cantidad de mediadores inflamatorios como IL-1, IL-2, FAP, GM-CSF, productos de la lipoxigenasa y posiblemente oxidantes. El endotelio resulta más permeable después de la exposición a FNT, independientemente de la presencia de neutrófilos. Resulta tóxico para las células tumorales, pero no para otros tipos celulares. El FNT también provoca la oxidación del glutatión de las células endoteliales posiblemente incrementando la actividad de la OX. Esto conduce a un aumento de la susceptibilidad de las células endoteliales a daños ulteriores por oxidantes endógenos y exógenos. Finalmente, el FNT activa los neutrófilos y eosinófilos y provoca que los mismos incrementen su liberación de proteasas y oxidantes.

## ENDOTOXINAS.

Las endotoxinas son LPS componentes de la pared celular de las bacterias Gram negativas y están compuestas de lípido A y polisacáridos. Estas sustancias han sido estudiadas durante años debido a su actividad biológica y su relevancia en la patofisiología de la septicemia por Gram negativos. La sepsis frecuentemente conduce a ADRS y en modelos animales las endotoxinas causan daño pulmonar. Las endotoxinas estimulan la formación de una gran variedad de mediadores secundarios, incluyendo FNT, IL-1, IL-6, FAP y proteínas de la coagulación. Mucho de estos mediadores se derivan de los macrófagos alveolares. Estos mediadores secundarios resultan responsables de la mayoría de los efectos deletéreos de las endotoxinas.

Los efectos de las endotoxinas resultan muy difíciles de estudiar en animales de experimentación debido a que las diferentes especies muestran grados variables de sensibilidad a las endotoxinas y su respuesta resulta muy variable con relación a la dosis. Por ejemplo, en algunas especies la vasodilatación periférica que conduce a severa hipotensión ocurre antes del daño pulmonar. En otras especies la sensibilidad sistémica y pulmonar, es a la inversa. El modelo animal mejor caracterizado, es daño pulmonar inducido por endotoxinas en carneros no anestesiados a los cuales se les administra dosis únicas de endotoxinas intravenosa sin anestesia previa. Dosis elevadas de endotoxinas producen edema pulmonar, insuficiencia respiratoria, y muerte de forma muy similar al distress respiratorio en los humanos. También ha sido determinado el tiempo necesario para producir el daño celular. En los primeros minutos de administración de pequeñas dosis ocurre hipertensión pulmonar, hipoxemia, aumento de la resistencia en la vía aérea, incremento del flujo linfático pulmonar y leucopenia periférica. Los PMN y los linfocitos resultan marginados dentro de los capilares pulmonares. Morfológicamente, el edema intersticial se presenta en los primeros minutos y se acompaña de migración de los PMNs al interior del intersticio. Una hora después de la infusión de endotoxinas, existe desde el punto de vista morfológico daño focal endotelial y de las células epiteliales alveolares tipo 1. La hipertensión pulmonar comienza a disminuir pero tarda largo tiempo en retornar a lo normal. El pulmón permanece rígido y poco distensible mientras permanezca el daño celular y el edema pulmonar.

Se han realizado mayores esfuerzos para analizar directamente la patofisiología y mecanismos celulares que producen el daño celular en estos modelos. En términos de cuales células participan en estos modelos, el daño es parcialmente dependiente de los PMNs, aunque la respuesta muy

temprana no lo es. Previo a la exposición del pulmón a otros stress como el aumento de la hiperoxia, se incrementa el daño tardío producido por la infusión de endotoxinas posiblemente por que los macrófagos liberan más factor quimiotáctico de neutrófilos. Las endotoxinas activan tanto los neutrófilos como las células endoteliales, sus superficies de adhesión molecular se incrementan en número, y esto conduce a un incremento de la adherencia mutua y salida de los PMNs fuera de la microvasculatura. Los linfocitos también son activados para producir linfocinas que funcionan como quimioatrayentes (chemoattractants) de linfocitos e inhibidores de la migración (factores inhibidores de la migración), por lo tanto aumentan el número local de linfocitos. Los macrófagos resultan activados por la exposición a endotoxinas y producen FNT, IL-1 y otras citocinas. La IL-1 de los macrófagos activa los linfocitos pulmonares e incrementa sus receptores de IL-2. Recíprocamente, IL-2, causa que los linfocitos produzcan IFN-gamma y estimulen la actividad oxidativa de los macrófagos. Las plaquetas resultan secuestradas en el pulmón después de la administración de endotoxinas y pueden liberar mediadores. Aunque la depleción plaquetaria de los animales antes de la endotoxemia ha demostrado pocos efectos de protección. No resulta sorprendente que estas células liberen muchos mediadores diferentes en este proceso. Como también hemos expuestos la producción de oxidantes y proteasas también resulta incrementada por las endotoxinas.

Las endotoxinas activan el sistema del complemento tanto por la vía clásica como por la vía alternativa. La activación del complemento contribuye a los efectos biológicos de las endotoxinas. La infusión endovenosa de fragmentos de complemento o activadores del complemento como el factor del veneno de cobra, conduce a cambios similares a los encontrados al administrar endotoxinas, pero con un grado de severidad mucho menor. La activación del complemento resulta insuficiente para explicar la mayoría de los efectos biológicos de las endotoxinas.

Los productos de la lipoxigenasa, los productos de la cicloxigenasa, y el FAP pueden ser liberados por la infusión de endotoxinas. Ellos probablemente justifiquen la mayoría de las hipertensiones pulmonares tempranas. La concentración linfática pulmonar de leucotrienos y prostaglandinas se incrementa notablemente. Los compuestos específicos varían su concentración linfática en diferentes momentos. Los macrófagos alveolares constituyen una fuente para eicosanoides puesto que las endotoxinas incrementan la liberación de PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> alfa y LTC<sub>4</sub> in vitro. La IL-1 de los macrófagos, probablemente induce la producción de FAP por las células endoteliales y otros tipos celulares. Los antagonistas de los receptores del factor activador plaquetario administrados antes de la

endotoxina, previenen muchos de los efectos dañinos de las endotoxinas, incluyendo hipotensión, pérdida de la vasoconstricción pulmonar hipóxica, flujo extravascular de albúmina, agua y muerte. Como hemos analizado, el FAP incrementa la adhesión de los PMN a las células endoteliales. Los mediadores lipídicos pueden actuar sinérgicamente con las endotoxinas y causar algunos de sus efectos sostenidos.

Existen escasos estudios experimentales de las endotoxinas en humanos. Estudios recientes en humanos normales han demostrado que las endotoxinas disminuyen la resistencia vascular sistémica. Y aumentan la frecuencia y el índice cardiaco. Después de una sobrecarga de volumen la función ventricular izquierda disminuye. Además, las endotoxinas activan el sistema fibrinolítico en humanos. En la primera hora se incrementa la cantidad de plasminógeno antigénico y funcional. Además, la cantidad de complejos plasmina-alfa 2 antiplasmina, se incrementa 7 veces en las primeras 3 horas.

Los antioxidantes pueden proteger o no contra algunas de las acciones deletéreas de las endotoxinas. La administración de DOS junto con las endotoxinas potencia el incremento de la permeabilidad vascular pulmonar. Presumiblemente, los iones hidroxilos se incrementan debido a la dismutación (dismutation) de superóxidos a  $H_2O_2$ . Se ha demostrado que los antioxidantes previenen la acción de las endotoxinas sobre las células endoteliales in vitro.

Resumiendo, las endotoxinas activan una amplia gama de células y mediadores que contribuyen a sus efectos biológicos. Aunque los PMN resultan de suma importancia en el daño pulmonar, ellos sólo justifican algunos de los efectos de la enfermedad por endotoxinas. La mayoría de los efectos de las endotoxinas probablemente guarden relación con la producción de FNT e IL-1 por los macrófagos.

## COMPLEJOS INMUNES.

Los complejos inmunes pueden producir daño pulmonar tanto en la región vascular como en el espacio aéreo. Por ejemplo, los anticuerpos locales producidos por los linfocitos locales pueden interactuar con antígenos ambientales inhalados y originar inmunocomplejos en el espacio alveolar y en el parénquima pulmonar. Alternativamente, los inmunocomplejos circulantes, pueden depositarse en el pulmón. Menos frecuentemente los anticuerpos contra las estructuras del pulmón normal como las proteínas de la membrana basal alveolar, pueden producir daño pulmonar.

Los inmunocomplejos intra-alveolares producen hemorragia aguda y alveolitis neutrofílica. Cuando el anticuerpo involucrado es IgE, el daño requiere de complemento y neutrófilos. Antígeno, anticuerpo y complemento se detectan en las paredes alveolares. Los inmunocomplejos activan los macrófagos alveolares y sistema del complemento, dando lugar a la generación de C5a, FNT-alfa; IL-1, FAP, y oxidantes. Estos mediadores y los inmunocomplejos, presumiblemente son capaces de liberar oxidantes y activar proteasas. El FNT resulta de suma importancia para el influjo de neutrófilos, posiblemente al incrementar las células endoteliales ELAM-1. Los niveles de FNT se encuentran aumentados en el líquido de lavado bronquial, y los anticuerpos anti-FNT, reducen la extensión del daño. Posiblemente al inhibir el influjo de PMNs. Los antagonistas del factor activador de plaquetas, reducen la injuria, pero no disminuyen el influjo de los polimorfonucleares. La extensión de la injuria puede disminuirse con el pretratamiento con antioxidantes, incluyendo catalasas, DOS, depuradores de radicales hidroxilos, y quelantes de hierro. Esto refuerza la participación de los oxidantes en el daño pulmonar. Los oxidantes también pueden generar factores quimiotácticos para neutrófilos, y por tanto amplificar la injuria. Aunque el daño de este inmunocomplejo IgG, es dependiente de los PMN, cuando el número de los polimorfo nucleares disminuye en más del 90%, sólo se produce daño de escasa magnitud. Los macrófagos y otras células también generan oxidantes después de la exposición a inmunocomplejos.

Cuando los anticuerpos IgA son sustituidos por IgG, la injuria resulta independiente de los PMN y menos dependiente del complemento. La razón para la independencia de los neutrófilos en este modelo de daño por IgA, se debe, probablemente a la falta de influjo de PMN. Aunque realmente se desconoce si los anticuerpos IgA, juegan un role significativo en las enfermedades pulmonares humanas asociadas con la formación de complejos inmunes.

Los inmunocomplejos circulantes se depositan en el pulmón cuando hay aumento de la permeabilidad vascular. Por lo tanto, cuando los complejos inmunes se acompañan de liberación de histamina, FAP u otros mediadores como en la anafilaxia, su depósito aumenta. En modelos experimentales de enfermedad aguda del suero, se produce una inflamación aguda en las arterias de mediano calibre acompañado de proliferación del endotelio y la media. Aunque la inflamación no se extienda dentro del parénquima pulmonar. En contraste, la enfermedad del suero crónica, produce engrosamiento de la membrana basal capilar y causa fibrosis intersticial junto con depósito de fibrina alveolar e inflamación. En estos modelos se



produce incremento secundario de otros mediadores debido a que resulta imposible escribir los cambios observados al efecto de los inmunocomplejos solamente.

Los inmunocomplejos se encuentran frecuentemente en el pulmón en otras enfermedades como el lupus eritematoso sistémico, el síndrome de Goodpasture, la granulomatosis de Wegener, el granuloma eosinófilo, la fibrosis pulmonar idiopática, el pulmón reumático, el asma crónica, la neumonitis por hipersensibilidad y otras enfermedades vasculares del colágeno, asma crónica, malignidad y algunas enfermedades infecciosas. Por ejemplo, en el LES, pueden encontrarse depósitos de DNA, anti-DNA y C3. Las membranas basales en los pacientes lúpicos pueden encontrarse engrosadas, así como en las glomerulonefritis por inmunocomplejo. La neumonitis hemorrágica que ocurre en algunos pacientes con lupus recuerda el modelo experimental de daño alveolar por inmunocomplejos. Aunque los inmunocomplejos no siempre se presentan en los pulmones de pacientes con LES.

En resumen; se cree que los inmunocomplejos producen injuria pulmonar a través de la generación de mediadores secundarios, activación de células inflamatorias y liberación de oxidantes y proteasas, esto resulta presuntivo y no existen pruebas directas de su role en las enfermedades pulmonares hasta el presente.

## COMPLEMENTO.

La activación del complemento tanto dentro del pulmón, como dentro de la circulación se asocia a daño pulmonar. Los fragmentos de C5 resultan potentes quimiotaxinas y activadores de neutrófilos. Los fragmentos de C3, pueden estimular la agregación de neutrófilos y plaquetas. En la vía clásica, los complejos antígeno-anticuerpo activan el complejo enzimático C142 para dividir C3. En la vía alternativa el factor B es activado y estabilizado como una convertasa y divide C3. En ambas vías Ceb divide C5 y junto a un un complejo ataque de la membrana terminal puede producir lisis celular.

La activación intravascular del complemento ocurre en muchas enfermedades clínicas. Los modelos experimentales han utilizado la infusión de C5a, activador plasmático zymosan y factor del veneno de cobra, un activador de la vía alternativa del complemento. Con cada uno de ellos se produce una rápida activación y agregación de PMNs con atrapamiento en la microvasculatura pulmonar. El daño celular depende del

complemento, los neutrófilos y los oxidantes. Los cambios en el endotelio pueden conducir a otros eventos adversos como el incremento de las metástasis tumorales.

Catalasas, depuradores de radicales hidroxilos, alopurinol, deferoxamina, e inhibidores de la liberación de histamina (cromolín), protegen contra el daño pulmonar debido a la activación intravascular del complemento. El C5a generado por la activación del complemento puede estimular la liberación de histamina. La histamina puede estimular la actividad de la OX de las células endoteliales y generar más oxidantes. C5a también es capaz de incrementar directamente la conversión de xantina deshidrogenasa a OX. Los agentes protectivos reducen el daño pulmonar de la peroxidación lipídica, pero su supresión no inhibe el influjo de neutrófilos dentro del pulmón. Los inhibidores de la lipoxigenasa y la tromboxano sintetasa protegen de forma parcial contra el daño pulmonar, en un mayor grado que los inhibidores de la cicloxigenasa.

Otros investigadores han encontrado que aunque la activación del complemento causa adherencia de los PMN al endotelio capilar e influjo de neutrófilos dentro del pulmón, un segundo estímulo adicional es necesario para producir el daño pulmonar e hipoxemia. En combinación con la activación del complemento, periodos cortos de hipoxemia resultan suficientes para incrementar la permeabilidad pulmonar a la albúmina. Mientras, se desconoce si la quimiotaxis de los PMN ocurre por la sola acción de los fragmentos de complemento, o resulta secundaria a la liberación de productos de los macrófagos.

Datos experimentales con el uso de agentes protectivos han demostrado que el mayor daño se produce por la activación de fragmentos de complemento sobre células activas en mayor grado que por la acción directa de la cascada del complemento. Mientras se desconoce si el complejo terminal de ataque sobre la membrana (C5b-9) es capaz de dañar directamente las células pulmonares. Estos complejos se encuentran en los septus alveolares de ratas con daño por complejos inmunes con IgA e in vitro pueden causar activación de los polimorfonucleares.

Mediadores lipídicos.

La fosfatidilcolina de las membranas celulares es metabolizada a ácido araquidónico tanto por la fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), como por la fosfolipasa C. Recíprocamente, el ácido araquidónico es metabolizado tanto por la lipoxigenasa como por la cicloxigenasa para generar una amplia serie de complejos biológicamente activos. El mecanismo celular de síntesis,

liberación, y metabolismo de los productos de la lipoxigenasa y la cicloxigenasa, resulta complejo y en el capítulo específico es revisado en detalles con el subtítulo de Eicosanoides.

## FACTOR ACTIVADOR DE PLAQUETAS (FAP).

En 1971, Henson demostró la existencia de un factor soluble derivado de los leucocitos que podía ocasionar agregación de las plaquetas. Benveniste y colaboradores confirmaron estas investigaciones y denominaron la sustancia Factor Activador de Plaquetas (FAP); con este nombre ha sido ampliamente reconocido a pesar de las otras múltiples acciones de este compuesto.

El FAP representa una familia de fosfolípidos, porque el grupo alquil de la posición 1, puede variar de tamaño de 12 a 18 átomos de carbono. En neutrófilos humanos, el FAP consiste en una mezcla de éteres de 16 a 18 átomos de carbono.

Al igual que los eicosanoides, el FAP no se almacena en las células, pero el mismo resulta sintetizado en respuesta a muy diversos estímulos. El precursor del FAP es el 1-O-alkil-2-acil-glicerofosfocolina, un líquido que se encuentra en altas concentraciones en las membranas de muchos tipos de células. El FAP se sintetiza a partir de este sustrato en dos pasos. El primero involucra la acción de la fosfolipasa  $A_2$ , con la formación de 1-O-alkil-liso-glicerofosfocolina (liso-FAP), y un ácido graso libre (usualmente araquidonato). En un segundo paso, liso-FAP es acetilado por la acetil coenzima A en una reacción catalizada por la liso-FAP acetil transferasa, este compuesto representa el paso final de la cadena. La síntesis de FAP resulta estimulada durante la reacción antígeno-anticuerpo y por una variedad de agentes incluyendo péptidos quimiotácticos, trombina, colágeno y otros autacoides, el FAP también puede estimular su propia formación. Tanto la fosfolipasa como la acetil-transferasa son enzimas dependientes de calcio.

La inactivación del FAP también ocurre en dos pasos. De forma inicial el grupo acetil del FAP resulta removido por la acción de la FAP acetilhidrolasa para formar liso-FAP, esta enzima se encuentra tanto en la célula como en el plasma. Posteriormente liso-FAP es convertido a 1-O-alkil-2-acil-glicerofosfocolina por una acetil-transferasa. Este último paso resulta inhibido por el calcio iónico.

Muchos tipos celulares son capaces de sintetizar FAP, incluyendo plaquetas, PMN, monocitos, mastocitos, eosinófilos, células mesangiales renales, hepatocitos, fibroblastos, células medulares y células endoteliales vasculares y macrófagos alveolares. En última instancia la estimulación de la síntesis de FAP resulta en la liberación de FAP y liso FAP desde la célula. Aunque en algunas células (como en las células endoteliales) el FAP no es liberado y aparentemente ejerce sus efectos de forma intracelular.

Propiedades farmacológicas del FAP:

1. Sistema cardiovascular: el FAP es un potente vasodilatador; cuando se administra por vía IV disminuye la resistencia vascular periférica y la presión sanguínea sistémica. Sus efectos sobre la circulación coronaria resultan una mezcla de sus efectos locales y sistémicos. El FAP también resulta un potente vasoconstrictor de la vasculatura pulmonar. El FAP incrementa la permeabilidad vascular y potencia el movimiento de líquido fuera de la vasculatura. El incremento de la permeabilidad se debe a la contracción de las células endoteliales venulares, la acción del FAP resulta 1000 más potente que la histamina o la bradikinina.
2. Plaquetas: el FAP resulta un potente estimulador de la agregación plaquetaria in vitro además de liberar  $\text{TxA}_2$  y los gránulos contenidos en las plaquetas. El FAP no funciona como un mediador independiente de la agregación plaquetaria, pero contribuye a la formación del trombo de forma análoga al  $\text{TxA}_2$  y el ADP.
3. Leucocitos: FAP estimula la agregación de los leucocitos PMNs, la liberación de leucotrienos y enzimas lisosomales y la generación de superóxido. De forma similar el FAP estimula la agregación de los monocitos y la degranulación de los eosinófilos. Es además un factor quimiotáctico para eosinófilos, neutrófilos y monocitos. También estimula la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales y su diapédesis.
4. Músculo liso: provoca la contracción del músculo liso gastrointestinal, uterino y pulmonar. Las evidencias sugieren que otros autacoides ( $\text{LTC}_4$ ,  $\text{TxA}_2$ ) median los efectos del FAP. También producen aumento de la secreción de mucus, y aumenta la permeabilidad de la microcirculación pulmonar, provocando su acumulación en tráquea y bronquios.
5. Estómago: además de provocar contracción del músculo liso gástrico, el FAP es el más potente agente ulcerógeno conocido. Cuando se

administra de forma IV, produce erosión de la mucosa gástrica que se extiende dentro de la submucosa.

6. Riñones: disminuye el flujo sanguíneo renal, el filtrado glomerular, el volumen urinario y la excreción de sodio.
7. Inflamación y respuesta alérgica: el FAP elaborado por los leucocitos y mastocitos, ejerce efectos proinflamatorios. La inyección intradérmica de FAP duplica mucho de los signos y síntomas de la inflamación incluyendo incremento de la permeabilidad vascular, hiperalgesia, edema e infiltración de neutrófilos. Cuando se inhala, provoca intensa broncoconstricción, estimula la acumulación de eosinófilos en el pulmón, y causa edema traqueal, bronquial y estimula la secreción de mucus. Los efectos de los FAP-antagonistas resultan más bien limitados. Aunque ellos revierten la broncoconstricción en el shock anafiláctico y mejoran la supervivencia, el impacto de los FAP antagonistas en modelos animales de asma e inflamación ha sido poco alentador. De forma similar, en pacientes asmáticos los FAP antagonistas inhiben de forma parcial la broncoconstricción inducida por la exposición a antígenos, pero no modifican la broncoconstricción inducida por metacolina, ejercicio o inhalación de aire frío.

FAP posee un amplio rango de efectos sobre la célula a concentraciones muy bajas. Puede activar a los PMNs para que respondan más agresivamente a otros estímulos. Es además un potente activador de los eosinófilos, lo cual sugiere que puede jugar un rol protagónico en la patogénia del asma y otras enfermedades alérgicas. En muchos lechos vasculares el FAP induce constricción del músculo liso y en los pulmones produce tanto broncoconstricción como vasoconstricción. Además, el FAP estimula la formación de edema, posibilitando secundariamente la liberación de otros mediadores inflamatorios como leucotrienos. Los antagonistas del FAP disminuyen la respuesta inflamatoria en muchos modelos experimentales de enfermedades pulmonares, lo cual sugiere que el FAP juega un importante papel para las células inflamatorias. Por ejemplo, los antagonistas del FAP reducen el incremento de la reactividad de las vías aéreas observados en modelos experimentales de enfermedades alérgicas e inflamatorias de las vías aéreas. La infusión de FAP estimula muchos de los efectos de la endotoxemia, shock, agregación plaquetaria y edema. Se desconoce como la endotoxemia estimula la liberación de FAP o como el FAP y el FNT se inducen unos a otros.

Resumiendo, se considera que el FAP es un mediador importante en muchas enfermedades inflamatorias y alérgicas. Aunque sus funciones precisas en relación con otros mediadores resultan desconocidas.

Leucotrienos.

Los leucotrienos han sido intensamente estudiados, pero muchas preguntas acerca de su generación, efectos celulares y papel fisiológica permanecen sin respuestas.

Estos metabolitos del ácido araquidónico se forman por la acción de la 5-lipoxigenasa la cual produce ácido 5-hidroperoxieicosatetraenoico (HPETE), el cual es desdoblado a ácido 5-hidroxeicosatetraenoico (HETE) o LTA 4 por la acción de la LTA sintetasa.

En forma subsecuente LTA 4 puede generar bajo la acción enzimática de la LTA hidrolasa LTB 4 o seguir la formación secuencial de leucotrienos sulfopéptidos como aparece en el esquema. Muchos factores regulan que leucotrieno específico es generado por los diferentes tipos celulares. Los neutrófilos generan mucho más LTB 4 que LTC.

Disfunción del surfactante.

En muchas enfermedades inflamatorias del pulmón, la pérdida del surfactante es la causa de la disminución de la tensión superficial. Esto ha sido bien documentado en pacientes con ARDS, donde se producen las siguientes alteraciones en la composición de fosfolípidos del surfactante:

1. Disminución de fosfatidilcolina.
2. Disminución de fosfatidilglicerol.
3. Disminución de la apoproteína A y B (SP-A y SP-B).

En pacientes con ADRS y edema hemorrágico, los glóbulos rojos y la fibrina se unen al surfactante e inactivan sus propiedades de reducir la tensión superficial. Alteraciones similares han sido detectadas en daños pulmonares incluyendo radiaciones, hiperoxia y ácido oleico.

La deficiencia de surfactante ha estimulado el interés por la terapéutica de remplazo en diferentes tipos de injuria pulmonar. Para conseguirlo, deben encontrarse formas de reproducir la función de SP-A; SP-B Y SP-C además de promover un adecuado balance de los fosfolípidos. Las apoproteínas hidrofílicas SP-A y SP-D probablemente desempeñen importantes funciones en las defensas del huésped contra las infecciones debido a que estimulan la acción fagocítica de los macrófagos alveolares. Además, SP-A, trabaja en conjunto con las apoproteínas hidrófobas SP-B y SP-C para

estimular la dispersión del surfactante. Las apoproteínas surfactantes B y C resultan críticas para la rápida dispersión de la película de surfactante secretado. Este sistema está altamente regulado, debido a que SP-A disminuye la secreción lipídica de surfactante y SP-B y SP-C promueven la recaptación de fosfolípidos surfactantes desde el espacio alveolar. Estos lípidos pueden ser reusados mediante su re-empacamiento en cuerpos lamelares y secreción. La forma en que el surfactante exógeno puede actuar sobre el surfactante endógeno no está bien definida. Los resultados preliminares de la terapéutica de remplazo en pacientes con ARDS sugieren que resulta muy beneficioso desde el punto de vista funcional y que disminuyen la mortalidad pero, la relación costo beneficio dista mucho de ser esperanzadora. Las anomalías de surfactantes pueden ser de interés en otros procesos patológicos incluyendo fibrosis pulmonar, proteinosis alveolar pulmonar, neumonía por *Pneumocystis carinii* y la exposición a gases oxidantes.

## CONCLUSIONES.

Se han producido considerables avances en el entendimiento de los mediadores potenciales y las células que juegan un rol protagónico en las diferentes formas de daño celular. Esta plétora de información constituye una espada de doble filo. Muchos han sido los objetivos potenciales para las intervenciones terapéuticas. El aumento de los conocimientos sobre cada uno de los numerosos componentes potenciales y la complejidad de sus interacciones hace menos probable que una simple solución “mágica” pueda resolver el problema. Aunque los experimentos *in vitro* resultan extremadamente útiles para definir los mecanismos y efectos de la injuria celular, ello no permite extrapolar los resultados al humano. Estas determinaciones requieren de estudios combinados sobre sustancias inhibitoras en animales y en humanos; estudios genéticos en animales y modelos *in vitro* más sofisticados. Posiblemente el éxito del tratamiento de la injuria pulmonar dependa del uso combinado de múltiples drogas designadas para actuar sobre muchos puntos de la patogénesis del daño.

## ***EL SÍNDROME SÉPTICO.***

### **DEFINICIÓN.**

La respuesta del huésped frente a microorganismos invasores comprende una rápida y compleja amplificación de señales (signal) y respuestas que se expanden más allá de los tejidos invadidos. Fiebre o hipotermia; taquipnea y taquicardia, frecuentemente son el preludio del comienzo de la sepsis y el comienzo de la respuesta inflamatoria sistémica. Cuando los mecanismos de control contrarregulatorio son eliminados, los microorganismos frecuentemente pasan del tejido inflamado al torrente circulatorio, la homeostasis fracasa y puede producirse fracaso de órganos. De continuar el fracaso en el control contrarregulatorio se produce el shock séptico, caracterizado por hipotensión y disfunción orgánica. En sus estadios iniciales el control de la sepsis resulta posible, pero una vez establecido el shock y la disfunción de órganos la mortalidad aumenta significativamente a pesar de los tratamientos agresivos.

Definiciones más utilizadas para describir las diferentes condiciones de los pacientes sépticos.

1. Bacteriemia (fungemia): presencia de bacterias (hongos) en la sangre, los hemocultivos resultan generalmente positivos.
2. Infección: invasión de tejidos del huésped, normalmente estériles por microorganismos.
3. Septicemia: enfermedad sistémica causada por la difusión de microorganismos o sus toxinas al torrente circulatorio.
4. Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS): se diagnostica cuando al menos dos de las siguientes cuatro condiciones se encuentran presentes
  - ? Temperatura oral mayor de 38<sup>0</sup>C o menor de 36<sup>0</sup>C.
  - ? Frecuencia respiratoria mayor de 20/min o PaCO<sub>2</sub> menor de 32 mmHg.
  - ? Frecuencia cardiaca mayor de 90 latidos por minutos.
  - ? Conteo de leucocitos mayor de 12,000 o menor de 4,000 por mm<sup>3</sup>.
5. Sepsis: SIRS con supuesta o demostrada etiología microbiana.
6. Sepsis severa (similar a síndrome séptico): sepsis con uno o más de los siguientes signos:
  - ? Disfunción orgánica.
  - ? Hipoperfusión de órganos.
  - ? Hipotensión.



- ? Acidosis láctica.
  - ? Alteraciones agudas del status mental.
  - ? Oliguria
  - ? Distress respiratorio del adulto.
7. Hipotensión inducida por sepsis: Presión sistólica menor de 90 mmHg, o reducción de 40 mmHg por debajo de sus valores basales, en ausencia de otras causas de hipotensión.
  8. Shock séptico: sepsis con hipotensión refractaria a la resucitación con volumen más disfunción orgánica y anormalidades de la perfusión enumeradas para la sepsis severa.
  9. Síndrome de Disfunción Múltiple de Organos (MODS): disfunción de más de un órgano, con necesidad de medidas de soporte para mantener la homeostasis.

Estas definiciones corresponden a la Medicine Consensus Conference, 1992. American College of Chest Physicians/Societt of Critical Care.

Otras definiciones del síndrome séptico.  
(Emergency Medicine March 1997).

#### I. SEPSIS.

Respuesta sistémica a la infección con presencia de 2 o más de los siguientes hallazgos:

- ? Temperatura  $> 38$  o  $< 36$  grados centígrados.
- ? Taquicardia.
- ? Taquipnea.
- ? Leucocitosis  $> 12,000$  mm<sup>2</sup>.
- ? Leucopenia  $< 4,000$  mm<sup>2</sup>.

#### II. SEPSIS SEVERA.

Sepsis con uno o más de los siguientes hallazgos:

- ? Disfunción de órganos.
- ? Hipoperfusión con acidosis láctica, oliguria y alteraciones sensoriales.
- ? Hipotensión.

#### III. SHOCK SEPTICO.

Hipotensión inducida por sepsis a pesar de la adecuada reposición de volumen:

- ? Presión sistólica menor de 90 mm Hg.
- ? Reducción de la TA por de bajo de 40 mm Hg de los valores basales.
- ? Anormal perfusión de órganos.

#### IV. FALLA MULTORGANICA:

? Presencia de dos o más disfunciones orgánicas en un paciente con sepsis severa.

El Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS), como ha sido recientemente definido puede tener etiología infecciosa y no infecciosa.

La sepsis puede ser una respuesta para diferentes clases de organismos. La invasión microbiana del torrente circulatorio, no es esencial para el desarrollo de sepsis, la diseminación local o sistémica de moléculas microbianas señalizadoras o las toxinas bacterianas, también puede provocar esta respuesta. Los hemocultivos resultan positivos para hongos o bacterias en el 20 al 40 % de los casos de sepsis severa, y en el 40 al 70% de los pacientes en shock séptico. Las bacterias se asilan en el 75 al 85% de los hemocultivos positivos, el resto puede estar constituido por hongos o infecciones polimicrobianas (mixta). En los pacientes en los cuales los hemocultivos resultan negativos el diagnóstico puede establecerse por cultivo o examen microscópico de material infectado extraído del sitio de la lesión. Con frecuencia resulta imposible establecer el agente infeccioso.

#### EPIDEMIOLOGÍA.

La sepsis es un factor contribuyente en más de 100,000 muertes por año en los Estados Unidos. La incidencia anual oscila entre 300,000 a 500,000 casos. Aproximadamente las dos terceras partes ocurren en pacientes hospitalizados por otras causas. Dentro de los factores que predisponen a bacteriemias por Gram negativos, se encuentran la diabetes mellitus, las enfermedades linfoproliferativas, la cirrosis hepática, los procedimientos diagnósticos y terapéuticos invasivos, las quemaduras, y el tratamiento con drogas que producen neutropenia. Los factores de riesgos para infecciones por organismos Gram-positivos incluyen, cateterizaciones vasculares, la presencia de dispositivos mecánicos intravasculares o epiteliales, las quemaduras y la drogadicción. Las fungemias, ocurren con mayor frecuencia en pacientes neutropénicos o inmunosuprimidos, frecuentemente después del uso de antibióticos de amplio espectro. El incremento de la incidencia de sepsis en USA se relaciona con el aumento de la población de la tercera edad, el incremento de la longevidad en pacientes con enfermedades crónicas, y el aumento de la incidencia de pacientes con SIDA. El aumento del uso de agentes antimicrobianos, glucocorticoides, dispositivos mecánicos intravasculares, y la ventilación mecánica juegan un importante role.

## FISIOPATOLOGÍA.

La respuesta séptica se produce cuando los microorganismos se diseminan desde el tracto gastrointestinal o la piel hacia los tejidos contagiados. La infección tisular localizada también puede conducir a bacteriemia y fungemia. De forma alternativa, los microorganismos pueden ser introducidos directamente en el torrente circulatorio, como por ejemplo; vía catéter intravenoso. En una minoría de casos, no puede ser puesto en evidencia el sitio de la infección primaria. En general, la respuesta séptica ocurre cuando los microorganismos invasores han sobrepasado las defensas innatas y adquiridas del huésped. Factores del huésped que permiten el crecimiento bacteriano como, deficiencia de anticuerpos, factores del complemento o inmunidad mediada por células, resultan críticos.

### Bacterias Gram negativas.

La pared celular de las bacterias Gram negativas es una estructura compleja que contiene alguno de los antígenos más importantes en la fisiopatogenia de la sepsis. La pared externa que es una propiedad única de las bacterias Gram negativas, es externa a la membrana citoplasmática y está separada de la misma por láminas de peptidoglicano y el espacio periplásmico. La membrana externa es una estructura de doble capa con relativamente poco fosfolípidos y alto contenido en proteínas, y lipopolisacáridos. La porción lipídica del lipopolisacárido, se encuentra atascada a la membrana y el polisacárido se proyecta hacia fuera y forma la superficie celular. Esta porción externa del polisacárido, constituye el antígeno O que es un componente repetitivo oligosacárido de las cadenas laterales. El antígeno O varía entre las diferentes cepas y especies de bacterias Gram negativas, en las cuales varía su composición química. El resultado de esta diferencia en reactividad inmunológica, es la base para establecer los diferentes serotipos entre las bacterias Gram negativas. Ciertos serotipos O son causa epidemiológica más probable de infección, aunque son necesarios otros factores que determinan la virulencia de la cubierta (como la adhesina), para la producción de la infección.

El núcleo de la pared celular de muchas bacterias Gram negativas aerobias, es una estructura lipoidal acetilada de disacáridos glucosamina (lipoidal acylated glucosamine disaccharide), conocida como lípido A. Este compuesto exhibe todas las características inflamatorias y hemodinámicas asociadas con las endotoxinas. La infusión experimental de endotoxinas en humanos y animales de experimentación reproduce todos los efectos

hemodinámicos y patofisiológicos asociados con la sepsis a Gram negativos y es un estímulo suficiente para iniciar la cascada de mediadores inflamatorios descritos en el síndrome séptico. Aunque todas las bacterias Gram negativas requieren de algún lipopolisacárido para su supervivencia, las bacterias Gram negativas anaerobias como *Bacteroides fragilis* carecen de lípido A, esto quizás explique porque la sepsis es menos común cuando solo este microorganismo anaerobio se encuentra involucrado.

Muchas bacterias Gram negativas poseen una cápsula externa de polisacáridos, en la parte exterior de la membrana, la función primaria de esta cápsula es inhibir la fagocitosis por parte de las células blancas del huésped. La composición de polisacáridos de la cápsula la hace altamente hidrofílica resultando más difícil para la superficie hidrófoba de las células del huésped realizar la fagocitosis. Para evitar la fagocitosis las bacterias probablemente invadan los tejidos del huésped y causen infección. Algunas proteínas de la cápsula (antígeno K), resultan débilmente inmunogénica y contribuyen a la virulencia bacteriana. El mejor estudiado es el antígeno K1 de la *Escherichia coli*, que ha sido asociada con meningitis neonatal, bacteriemias e infecciones del tracto urinario. Las cepas de *Escherichia coli* K1 positivas, inhibe la muerte celular mediada por complemento, lo que contribuye sin dudas a la mayor virulencia de estos gérmenes. El antígeno H, se ha descrito en los flagelos de muchas bacterias Gram negativas, los anticuerpos anti-H, inmovilizan las bacterias y disminuyen su virulencia.

Entre otros factores que determinan la virulencia de las bacterias Gram negativas tenemos las adhesinas. Las adhesinas son subunidades de proteínas semejantes a la lectina en el extremo de las fimbrias (también conocidos como pilis) de las bacterias. Las fimbrias, estructuralmente semejan pelos que irradian desde la superficie; fueron inicialmente caracterizadas por su capacidad de unirse a los receptores glicolipídicos de las células uroepiteliales y los glóbulos rojos. Las fimbrias P de la *E. coli* se relacionan fuertemente con la colonización e infección del tracto urinario.

Diversas toxinas se asocian con las bacterias Gram negativas. Las cepas de *Escherichia coli* que poseen en su membrana exterior hemolisinas resultan mucho más virulentas. Al menos se reconocen dos tipos de hemolisinas, hemolisinas alfa (que pueden ser excretadas) y hemolisinas beta (que permanecen unidas a la membrana). Las hemolisinas resultan citotóxicas para glóbulos rojos, linfocitos y neutrófilos. Algunas cepas de *E. coli* también producen enterotoxinas. El efecto primario de estas sustancias es actuar sobre las células de la mucosa del intestino delgado y producir diarreas acuosas profusas.

Contribuyen a la virulencia de las bacterias Gram negativas compuestos quelados de hierro o siderophores. Las bacterias dependen en gran medida del hierro para su crecimiento. Se ha demostrado experimentalmente que el inóculo bacteriano (número de bacterias), necesario para producir letalidad

se reduce significativamente cuando se inyectan *E. coli* junto con hierro. Las bacterias poseen un sistema evolucionado de captura del hierro que involucra compuesto excretor quelante de hierro, son capaces además de captar este compuesto mediante un proceso mediado por receptores específicos y degradarlo y obtener mediante este proceso hierro libre. Estas cepas que son más capaces de excretar los siderophores presentan ventajas selectivas sobre otras cepas. Como ha quedado demostrado, la lisis de los eritrocitos por las hemolisinas es otro mecanismo por el cual las bacterias obtienen hierro para su crecimiento.

### Bacterias Gram positivas y otros microorganismos.

Las bacterias Gram positivas carecen de lípido A, pero provocan un síndrome séptico clínicamente indistinguible a las bacterias Gram negativas. La pared bacteriana de los organismos Gram positivos es más gruesa que la de otras bacterias, razón por la cual retiene el colorante. Este engrosamiento es el resultado de múltiples capas de peptidoglicano, y comprende más de la tercera parte de la masa celular. El peptidoglicano es un heteropolímero compuesto por unidades repetitivas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico. Enlaces covalentes unen otros compuestos a las moléculas de peptidoglicanos como ácido teicoico, polisacáridos capsulares y otros polisacáridos y proteínas específicos de especie. Además, moléculas de ácido lipoteicoico se encuentran incrustadas en la membrana celular debajo de la capa de peptidoglicano.

Considerable variabilidad estructural de la pared celular puede ser encontrada dentro y entre las diferentes especies de organismos Gram positivos y la composición de la pared puede hasta cambiar durante los procesos de maduración celular. Esta gran variabilidad estructural ha hecho que sea muy difícil determinar cual de los componentes de la pared celular son los responsables de liberar los mediadores inflamatorios. Sin embargo, es bien conocido que tanto los peptidoglicanos, como el ácido teicoico pueden activar la vía alternativa del complemento. Los peptidoglicanos de los *Staphylococcus* inducen agregación plaquetaria y coagulación intravascular diseminada. Además, los componentes de la pared celular de una gran variedad de organismos Gram-positivos, estimulan los monocitos humanos a producir IL-1. Por otra parte no se ha podido encontrar el efecto de estos productos sobre la liberación de FNT-alfa, que se sabe se encuentra muy elevado en la sepsis por Gram-positivos. El porcentaje de pacientes sépticos con FNT-alfa mensurable y la magnitud de los niveles plasmáticos son comparables tanto en la sepsis por Gram positivos como en la sepsis por Gram negativos.

Las toxinas asociadas con organismos Gram positivos también están involucradas en la fisiopatología de la sepsis. En el síndrome de shock tóxico, la toxina tipo 1 (TSST-1), resulta un inductor potente de IL-1 y liberación de FNT-alfa por los monocitos. La toxina alfa del *Staphylococcus aureus* estimula a los monocitos humanos a liberar IL-1, y alterar la función plaquetaria en forma tal que predispone a la coagulación intravascular diseminada. Las enterotoxinas del *S. aureus* B y C1, y la exotoxina A (pirógeno de los *Streptococcus*) inducen la liberación de FNT-alfa por los monocitos. La estreptolisina O, activa la vía clásica del complemento y un número grande de otras toxinas son capaces de metabolizar el ácido araquidónico por vía de la lipoxigenasa o la ciclooxigenasa. Muchas de estas toxinas también incrementan la permeabilidad de membrana, permitiendo un rápido influjo transmembrana de calcio y otras moléculas.

Las enterotoxinas y las TSST-1, de los *Staphylococcus*; las exotoxinas de los *Streptococcus*; las enterotoxinas de *Clostridium perfringens* y un número de otros antígenos y toxinas de una variedad de bacterias y virus se clasifican como “superantígenos”. Los superantígenos son potentes estimulantes de la proliferación de linfocitos T, ellos se unen directamente a las moléculas de los antígenos de histocompatibilidad mayores de clase II, para formar complejos que luego se atascan a receptores específicos de los linfocitos T (región V beta). Aunque el efecto inicial es estimular la proliferación de linfocitos T, la estimulación continua conduce a pérdida de la capacidad de respuesta y muerte celular.

Los hongos poseen una rígida pared celular, compuesta de quitina y polisacáridos. El interior de la pared celular es la membrana citoplasmática compuesta principalmente por esteroides. Solamente un hongo (patógeno humano), *Cryptococcus neoformans*, posee una cápsula de polisacáridos alrededor de la pared celular. Aunque la inyección de hongos en animales de experimentación provoca la aparición de fiebre, los productos específicos que causan la liberación de citocinas y otros mediadores inflamatorios no han sido identificados. No se ha demostrado en vivo la producción de exotoxinas por hongos.

### Moléculas señalizadoras.

Los animales reconocen ciertas moléculas bacterianas como signos de invasión por microorganismos. Los lipopolisacáridos (LPS; endotoxinas), son las moléculas señalizadoras de las bacterias Gram negativos más potentes y mejor estudiadas. Una proteína plasmática (PR3-binding protein, o LPB), transfiere los LPS hacia receptores CD14 en la superficie de monocitos, macrófagos y neutrófilos. Esta interacción actúa como

gatillo y dispara rápidamente la producción y liberación de mediadores, como el factor de necrosis tumoral, que amplifican y transmiten las señales de los lipopolisacáridos hacia otras moléculas. Los receptores CD 14 soluble, también se une a los PLS en el plasma, y transfiere a las células endoteliales vasculares, con carencia de receptores CD14 en la superficie celular. El peptidoglicano y el ácido lipoteicoico de las bacterias Gram positivas, ciertos polisacáridos, enzimas extracelulares, y toxinas, reproducen respuestas en los animales que resultan similares a las producidas por los LPS. Se sabe poco sobre las bases moleculares y la potencia estimuladora de estos compuestos. Aunque algunos de ellos también necesitan unirse a superficies celulares o CD14 soluble antes de activar las células. Por tanto CD14 puede considerarse un receptor que facilita la respuesta a muchas señales microbianas. Otro mecanismo inmune innato que facilita el reconocimiento de las moléculas microbianas, incluye el complemento, (principalmente la vía alternativa), y la proteína C reactiva

Respuestas del huésped.

La respuesta séptica comprende complejas interacciones entre moléculas señalizadoras bacterianas, leucocitos, mediadores humorales y endotelio vascular. Estas interacciones aparecen detalladas en los capítulos de inmunomodulación.

Citokinas.

Las citokinas inflamatorias, tienen la función de amplificar y diversificar las respuestas del huésped. Estas proteínas pueden ejercer efectos endocrinos, paracrinos y autocrinos. El FNT-alfa estimula a los leucocitos y las células endoteliales a liberar más citokinas y mayores cantidades del propio FNT, los cuales se expresan a través de las moléculas de adhesión de superficie celular e incrementan el metabolismo del ácido araquidónico. Los niveles en sangre de FNT, se encuentran muy elevados en la mayor parte de los pacientes con sepsis. Además, la infusión endovenosa de FNT, reproduce muchas de las características anormales de la sepsis, incluyendo fiebre, taquicardia, taquipnea, leucocitosis, mialgias, y somnolencia. En animales, grandes cantidades de FNT, inducen shock, coagulación intravascular diseminada y muerte. Los antagonistas específicos del FNT, pueden abortar la respuesta séptica y prevenir la muerte de animales de experimentación expuestos a la acción de las endotoxinas.

Aunque el FNT es el mediador central, es sólo uno de las múltiples citokinas que contribuyen al proceso séptico. La IL-1, por ejemplo, exhibe

muchas de las actividades del FNT y aparentemente desempeña un role muy significativo en la amplificación de la respuesta séptica. La IL-1, el interferón gamma, IL-8 y otras citokinas, interactúan sinérgicamente unas con otras y con mediadores adicionales. Además muchos mediadores como el FNT y la IL-1, pueden estimular su propia intensidad de síntesis, por un mecanismo de feedback positivo. Con el progreso de la cascada séptica, la mezcla de citokinas y otros mediadores resulta muy compleja: niveles en sangre de una mezcla de más de 30 moléculas pro y antiinflamatoria han sido identificadas en el shock séptico. En modelos animales, la respuesta séptica puede interrumpirse con intervenciones tempranas que neutralicen uno o más de estos componentes, estas observaciones testifican, la importancia de la interacción de los diferentes mediadores.

Factor de necrosis tumoral alfa (FNT-alfa).

De todas las citokinas identificadas en la patogenia de la sepsis y el SIRS, el FNT-alfa, el mediador simple más importante y constituye el centro de las interpretaciones sobre el síndrome. Posee efectos sobre el corazón, pulmones, sistema nervioso central, hígado, intestino, pulmones y médula ósea. Los niveles de FNT-alfa se elevan minutos después del contacto con endotoxinas u otros inductores. Las grandes quemaduras, la pancreatitis, los traumas, y la isquemia de los tejidos incrementan los niveles de FNT-alfa, presumiblemente como resultado del incremento de la permeabilidad vascular originada por la inflamación del endotelio.

Las siguientes evidencias justifican por que se considera al FNT-alfa, la piedra angular en la sepsis y el SIRS:

1. Los ratones que genéticamente no responden a la acción de las endotoxinas, son incapaces de producir FNT-alfa murino.
2. La infusión de muy bajas dosis de endotoxinas en voluntarios humanos, (4 ng/Kg), produce altos niveles de FNT alfa, pero no produce niveles mensurables de IL-1 y FNT gamma.
3. La administración de FNT-alfa recombinante purificado a humanos y animales de experimentación, reproduce las alteraciones clínicas, de laboratorio e histopatológicas asociadas con la sepsis a Gram-negativos.
4. La administración de anticuerpos anti FNT-alfa previa a la administración de endotoxinas produce una mayor supervivencia en los animales de experimentación y provoca una disminución de la severidad del SIRS en primates bacteriémicos.

El FNT-alfa, posee importantes funciones independientemente de la sepsis. Este polipéptido fue por primera vez identificado por sus efectos oncolíticos sobre los tumores sólidos y por su role en la caquexia. Niveles bajos de FNT-alfa, resultan muy importantes para una homeostasis



fisiológica incluyendo el ritmo circadiano de la temperatura corporal, el sueño y el apetito. Su función en la sepsis no está totalmente determinada. Cuando se administra sólo, resulta insuficiente para producir letalidad en modelos animales, pero resulta altamente letal cuando se administra con productos bacterianos o bacterias enteras. Cuando se infunde junto con IL-2, o IFN-gamma, el FNT-alfa rápidamente conduce a letalidad en animales, acción que no realiza ningún otro producto individualmente. Por otro lado el FNT-alfa es necesario para la cura de la infección por *Listeria monocytogenes* un patógeno intracelular. Además, la pentoxifilina y los inhibidores del FNT-alfa, interfieren con la acción “asesina” de los macrófagos sobre complejos de *Mycobacterium avium*. Por lo tanto los efectos del FNT-alfa, resultan pleiotrópicos y en ocasiones paradójicos. En bajas dosis sirve para activar los sistemas de defensa del huésped y en altas dosis produce letalidad.

#### Mediadores derivados de los fosfolípidos.

El ácido araquidónico, liberado de las membranas fosfolípicas por la fosfolipasa A2, resulta convertido por la acción de la cicloxigenasa en prostaglandinas y tromboxanos. La prostaglandina E2 y la prostaciclina, causan vasodilatación periférica, mientras que el tromboxano A2, produce vasoconstricción y agregación de las plaquetas. Los leucotrienos resultan mediadores potentes en la isquemia y el shock, aunque el hecho de la reacción a las endotoxinas en ratones normales con carencia de genes para la 5-lipoxigenasa, pone el role de los leucotrienos en la respuesta séptica. Otro importante mediador derivado de los fosfolípidos, es el Factor Activador Plaquetario FAP (o-alkil-2-acetil-sn-glicerol-3 fosfocolina), el FAP resulta un estimulante potente de la agregación y degranulación de los neutrófilos, estimula la agregación de las plaquetas y puede producir daño tisular.

#### Factores de la coagulación.

El depósito intravascular de fibrina, las microtrombosis la CID, resultan características importantes de la respuesta séptica. Inicialmente el FNT, estimula la coagulación intravascular, al inducir la expresión de factor tisular en los monocitos de la sangre. Cuando el factor se expresa en los monocitos, estos se unen al factor VIIa y forman complejos activos, que pueden convertir los factores X y IX en sus formas enzimáticas activas. Como resultado la esta activación de ambas vías de la coagulación, se produce la generación de fibrina. La coagulación también resulta favorecida por la disfunción de la proteína C-proteína S de la vía

inhibitoria, mientras que la fibrinólisis se previene por el incremento de los niveles plasmáticos del inhibidor 1 del activador del plasminógeno. Por tanto se produce una gran tendencia para el depósito intravascular de fibrina, trombosis y sangramientos. Durante la sepsis también ocurre activación de los factores de contacto pero este mecanismo contribuye más al desarrollo de hipotensión que a la CID.

Las alteraciones de la coagulación en el SIRS, dependen tanto de la activación de la vía intrínseca, como la vía extrínseca de la coagulación por endotoxinas, FNT-alfa o IL-6. La secuencia precisa de tales eventos no ha sido bien dilucidada. Aunque quizás el evento inicial sea la activación de la vía extrínseca, estudios in vitro han demostrado que el factor XII (un factor de la vía intrínseca), puede ser activado directamente por una infusión de endotoxinas. Las evidencias que avalan el role primario de la vía intrínseca fueron suministradas por Young y se basan en las siguientes observaciones:

1. La administración de endotoxinas seguida de FNT-alfa en voluntarios humanos, provoca una generación de trombina mediada por el factor X, mientras que no de otros marcadores específicos de la vía intrínseca.
2. El FNT-alfa induce in vivo, la expresión de factor tisular (un factor de la vía intrínseca) en los monocitos.
3. Estudios in vivo en niños con meningococcemia han demostrado niveles elevados de factor tisular en los monocitos circulantes.
4. El bloqueo de la vía extrínseca con anticuerpos monoclonales, contra el factor tisular o el factor VII, seguido de la infusión de endotoxinas, bloquea completamente la conversión de trombina y fibrinógeno a fibrina. Por otra parte, el bloqueo de la vía intrínseca reduce la hipotensión letal producida por *Escherichia coli*. Por tanto el sistema intrínseco probablemente juegue algún role en la sepsis, posiblemente mediado, a través de la generación de hipotensión inducida por Kininas (bradikinina).

El sistema fibrinolítico también se activa tempranamente en el curso de la sepsis debido a la acción de las endotoxinas, FNT-alfa o IL-1 como ponen en evidencia la aparición en el suero de proteínas fibrinolíticas y productos de degradación del fibrinógeno. La activación del sistema fibrinolítico, aparentemente es independiente de la activación del sistema de la coagulación. Es muy probable que futuros estudios demuestren que muchas otras citocinas junto con el FNT-alfa, contribuyan a las coagulopatías que se presentan en la sepsis y el SIRS.

Complemento.

C5a y otros productos de la activación del complemento estimulan las reacciones de los neutrófilos como quimiotaxis, agregación, degranulación, y producción de radicales de oxígeno. Cuando se administra a animales, C5a, induce hipotensión, vasoconstricción pulmonar, neutropenia, trasudación vascular debido en parte al daño endotelial.

## ACTIVACIÓN DEL ENDOTELIO VASCULAR.

Células endoteliales.

Su importancia deriva de:

- 1) Una vez activada por FNT alfa o IL 1, producen mediadores primarios y secundarios: Citokinas, FNT alfa, IL 8, IL 1, GM-CSF, leucotrienos, prostaglandinas y factores de la coagulación.
- 2) Son objeto directo de la acción de los mediadores de la inflamación.
- 3) Inducen adhesión leucocitaria a sus membranas a través de receptores específicos denominados moléculas de adhesión que interactúan con las integrinas de la superficie leucocitaria constituyendo complejos estables.
- 4) Activan las plaquetas y la cascada de la coagulación.

Muchos tejidos resultan dañados por la sepsis. El mecanismo subyacente, es la injuria difusa del endotelio vascular, con extravasación de líquido y formación de microtrombosis que disminuyen la utilización de oxígenos y otros substratos en los tejidos afectos. Los mediadores derivados de los leucocitos y los trombos de fibrina-leucocito-plaqueta, contribuyen al daño tisular, pero el endotelio vascular por sí mismo juega un role protagónico. El FNT induce a las células del endotelio vascular a liberar citokinas, moléculas procoagulantes, FAP, factor relajante derivado del endotelio (óxido nítrico), y otros mediadores. Además, las moléculas de acción celular, estimulan la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales. Por un lado, estas células atraen fagocitos al sitio de la infección y activan su arsenal antibacteriano, por otro, estimulan la permeabilidad vascular, la formación de trombosis microvasculares, CID e hipotensión. Además, la integridad de la pared capsular resulta dañada por las enzimas liberadas por los neutrófilos (tales como elastasas) y los metabolitos tóxicos de oxígenos con producción de microhemorragias locales. El bloqueo de la adhesión de los leucocitos a la superficie de las células endoteliales como ocurre cuando se aplican anticuerpos monoclonales contra las moléculas de adhesión

intracelular 1, puede prevenir la necrosis del tejido en respuesta a la administración de endotoxinas.

### OXIDO NITRICO:

Producido a partir de la L-Arginina por una enzima constitutiva, presente entre otras células en el endotelio vascular. Esta enzima produce pequeñas cantidades de óxido nítrico de forma continua induciendo vasodilatación y antiagregación plaquetaria (de forma sinérgica con las prostaciclina). Su liberación es estimulada por la acetilcolina, bradiquinina e histamina.

El FNT e IL 1 inducen en células endoteliales y del SMF una nueva enzima cuya actividad depende de la disponibilidad del sustrato l-arginina.

El ON procedente de la enzima reductora produce pérdida del tono vascular y de la reactividad vascular a los agentes vasoconstrictores, disminución de la actividad miocárdica y posee propiedades citotóxicas, bactericidas, y disminuye la actividad mitocondrial, interviene en la producción de radicales libres y lesiona el DNA.

### SHOCK SÉPTICO.

La mayoría de las evidencias implican al óxido nítrico, producido por la óxido nítrico sintetasa inducible (NOSi), como un importante mediador en el shock séptico. Otras moléculas que inducen hipotensión son endorfinas, bradikinas, FAP y prostaciclina. Los agentes que inhiben la síntesis o la acción de cada uno de estos mediadores han logrado prevenir o revertir el shock endotóxico en animales.

### Mecanismos de control.

Mientras que la LBP plasmática estimula la respuesta inflamatoria, al facilitar la interacción de los LPS con los CD14 de superficie celular de los monocitos, LBP y CD14 soluble también pueden prevenir la señalización de los LPS al transferir moléculas de LPS dentro de partículas de lipoproteínas plasmáticas. La concentración plasmática relativa de LPS, LBP, CD14 y lipoproteínas, puede determinar la intensidad de señalización de los LPS (LPS signal intensity). Los mecanismos que controlan la respuesta inflamatoria resultan complejos, y pobremente entendidos. Los glucocorticoides inhiben la síntesis de citocinas por los monocitos, y cuando se administran junto o poco después del estímulo inflamatorio, pueden proteger a los animales de experimentación en el shock séptico. El incremento de los niveles de cortisol en la respuesta inflamatoria temprana,

probablemente realice la misma función. También pueden contribuir algunos antagonistas de las citokinas. Los niveles en sangre de los antagonistas de los receptores de IL-1, frecuentemente exceden los niveles de IL-1 circulante, y este exceso inhibe la unión de IL-1 a sus receptores. El Factor Transformante de Crecimiento-beta y la IL-10, también inhiben la respuesta inducida por los LPS en los monocitos humanos in vitro y previenen las muertes por endotoxemia en animales. Los niveles tisulares y en sangre de prostaglandina E<sub>2</sub>, TGF-beta, hormona estimulante de los melanocitos, cortisol, antagonistas de los receptores de IL-1, receptores solubles de FNT e IL-10 se incrementan durante la respuesta séptica y estas moléculas probablemente actúan en conjunto para disminuir su intensidad. Verdaderamente, los leucocitos sanguíneos de pacientes con sepsis severa resultan poco activos a la acción de agonistas como los LPS. En realidad la concentración plasmática de muchas de estas moléculas antiinflamatorias resultan muy elevadas en pacientes en shock séptico, indicando que son incapaces de controlar la respuesta inflamatoria cuando esta es severa.

#### Manifestaciones clínicas.

La respuesta inflamatoria sistémica frecuentemente se intensifica con el tiempo, pasando de formas moderadas (sepsis), a formas extremadamente severas (shock séptico). El rango de este incremento resulta diferente de paciente a paciente, y existen fuertes variaciones individuales en estas manifestaciones. Por ejemplo, algunos pacientes sépticos, pueden presentar temperatura normal o hipotermia. La ausencia de fiebre es más común en neonatos, ancianos, pacientes con enfermedades crónicas y alcohólicos.

La respuesta inicial del sistema cardiovascular frente a la sepsis grave es una caída dramática de la resistencia vascular sistémica por debajo de 400 dinas/sec/cm, e hipotensión. La caída de la presión arterial ha sido relacionada con la activación de la cascada del complemento, la liberación de prostaciclina y la presencia de factor de necrosis tumoral e interleukina-1. El incremento de los niveles de óxido nítrico, se correlaciona inversamente con la resistencia vascular periférica en los pacientes en shock séptico. Como consecuencia de la caída de la post-carga, el gasto cardiaco se incrementa. De forma contrastante, la resistencia pulmonar frecuentemente se incrementa, y se acompaña de hipertensión pulmonar.

La hiperventilación resulta con frecuencia un signo temprano, junto con desorientación, confusión, y otras manifestaciones de encefalopatía. Esto es más evidente en pacientes ancianos o con daño encefálico previo. Los signos neurológicos focales, resultan poco comunes, aunque los defectos focales preexistentes pueden hacerse más evidentes.

Es muy difícil diferenciar cuando los estados de letargia, confusión, y agitación resultan secundarios a desbalances metabólicos o hipoxia y cuando se deben a una infección primaria del sistema nervioso central. Estudios en animales sugieren que las alteraciones del metabolismo de los aminoácidos juegan un importante rol en las alteraciones del status mental.

La hipotensión y la CID predisponen a la acrocianosis, y la necrosis isquémica de los tejidos periféricos, de forma más común en los dedos. Pueden presentarse celulitis, pústulas, bullas y lesiones hemorrágicas, cuando los hongos o bacterias hematógenas penetran la piel y los tejidos laxos. Las endotoxinas bacterianas también pueden dispersarse por vía hematogena, provocando reacciones cutáneas difusas. En ocasiones las lesiones de la piel resultan sugestivas de un patógeno determinado. Cuando la sepsis se acompaña de petequias cutáneas o púrpura (con bordes bien demarcados), debe pensarse en infecciones por *Neisseria meningitidis* y menos frecuentemente *Haemophilus influenzae*. El ectima gangrenoso es una lesión cutánea que resulta de la infección por *Pseudomonas aeruginosa* o *Aeromonas hidrófila* en pacientes neutropénicos. Se describe como una lesión bullosa rodeada de edema con un centro hemorrágico y necrótico. La eritrodermia generalizada en un paciente séptico, sugiere el síndrome de shock tóxico por *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pyogenes*.

La sepsis generalmente se acompaña de leucocitos con desviación izquierda. No obstante, la neutropenia es característica en gran número de infecciones, especialmente aquellas ocasionadas por patógenos intracelulares como la fiebre tifoidea y la brucelosis. Puede existir una marcada neutropenia en pacientes con sepsis fulminantes, niños, ancianos o pacientes crónicamente enfermos.

Puede presentarse anemia, especialmente hemolítica del tipo microangiopática asociada a coagulación intravascular diseminada. Otro indicador de sepsis severa puede ser una caída del hierro sérico del 50% en los primeros días de la sepsis.

La CID se presenta más frecuentemente asociada con sepsis por Gram negativos. En ocasiones se presenta trombocitopenia aislada.

Ya en el año 1950 se señaló la posibilidad de que las bacterias u otras toxinas del TGI jugaran un importante papel en la mortalidad por shock traumático y hemorrágico. Fine postuló que existía un factor bacteriano en el shock traumático.

Durante 15 años esto se olvidó, pero de nuevo han surgido inquietudes ante la presencia de verdaderos cuadros de sepsis sin que aparezca el foco infeccioso ni aún en la necropsia.

El daño de la mucosa intestinal isquémica puede ser originado por la disminución de la resistencia de la mucosa a los efectos autodigestivos del contenido luminal. Este daño de la mucosa puede ser atenuado y en

ocasiones prevenido al inhibir las enzimas proteolíticas con Trasylol intraluminal. La albúmina y el carbón también previenen el daño de la mucosa al unirse a las sustancias activas dentro de la luz intestinal.

Investigaciones más recientes han demostrado que los efectos deletéreos de los radicales de oxígeno libre están relacionadas con la reperfusión del intestino isquémico, estos radicales son altamente citotóxicos y actúan sobre las membranas celulares incrementando su permeabilidad y destruyendo la integridad de la barrera mucosa intestinal. La enzima xantina oxidasa es la principal fuente de radicales de oxígeno libre y su acción es bloqueada por el alopurinol.

Los cambios histológicos en el intestino isquémico aparecen entre los 5 a 10 minutos de la oclusión intestinal total, en la parte más superficial de la mucosa. La magnitud total del daño depende del grado y duración de la isquemia.

Las endotoxinas son productos de las bacterias muertas, patógenas o no (lipopolisacáridos de pared celular). El hígado y sus células de Kupffer son el primer órgano expuesto a la acción de las endotoxinas, produciendo la disfunción hepática característica de la sepsis.

La colecistitis acalculosa descrita en los pacientes críticamente enfermos se relaciona directamente con la presencia de shock y la endotoxemia.

Las manifestaciones gastrointestinales como náuseas, vómitos, diarreas, e íleo pueden ser indicadores de gastroenteritis. Las úlceras de stress pueden producir sangramiento digestivo alto. También puede presentarse ictero colestático con niveles elevados de bilirrubina conjugada, y fosfatasa alcalina. En la mayoría de los casos su causa es una disfunción canalicular o hepatocelular y los resultados de las pruebas de funcionamiento hepático retornan a valores normales al controlarse los signos de sepsis. La hipotensión prolongada puede producir daño hepático agudo o necrosis intestinal.

La ictericia colestásica es común y puede preceder a la bacteriemia. Pueden desarrollarse úlceras gastroduodenales de stress dentro de las primeras 24 horas de la infección, aunque los sangramientos son infrecuentes. Las manifestaciones renales de la sepsis varían desde la proteinuria hasta la insuficiencia renal aguda asociada a necrosis tubular. El daño renal muchas veces se asocia con hipotensión, hipovolemia, administración de aminoglucósidos y pigmenturia.

Los niveles de lactato sérico aumentan tempranamente, en parte debido al aumento de la glicolisis con insuficiencia en el aclaramiento de los lactatos y piruvatos resultantes por hígado y riñones hipoperfundidos. Cuando se profundiza la hipotensión, los tejidos hipóxicos, generan más ácido láctico contribuyendo a la acidosis metabólica. Con frecuencia, la glucemia se incrementa principalmente en pacientes diabéticos, aunque la gluconeogénesis insuficiente y la excesiva liberación de insulina en

ocasiones producen hipoglicemia. Las citokinas liberadas durante la fase de respuesta aguda, inhiben la síntesis de albúmina y transferrina (transthyretin) y estimulan la producción de proteína C reactiva, LBP, fibrinógeno, y componentes del complemento. El catabolismo de las proteínas se acelera de forma usual.

La acidosis láctica es un excelente marcador de la severidad de la insuficiencia de perfusión y el déficit de aporte de oxígeno a los tejidos. Los niveles mayores de ácido láctico se asocian con una mayor mortalidad. La acidosis láctica ocurre en la sepsis a pesar del estado de circulación hiperdinámica, posiblemente por alteraciones metabólicas primarias, tales como disfunción mitocondrial o por anormalidades distributivas regionales del lecho esplácnico o la microcirculación. Todos los datos clínicos disponibles sugieren que el metabolismo del oxígeno de los tejidos se limita significativamente durante la hipoperfusión de las fases tempranas del shock séptico.

## COMPLICACIONES MAYORES.

### Complicaciones cardiopulmonares.

En 1994, The American-European Consensus Conference propuso los siguientes criterios para definir el Distress Respiratorio:

1. Relación  $PaO_2/FiO_2$  menor de 200.
2. Infiltración alveolar difusa en ausencia de cardiomegalia u otros signos de insuficiencia cardíaca.
3. Presión capilar pulmonar en cuña menor de 18 mm Hg.

El shock séptico se acompaña de una mortalidad del 50%, pero cuando el ARDS se presenta la mortalidad oscila entre el 80-90%.

El desbalance ventilación-perfusión, produce una caída en la presión arterial de oxígeno  $pO_2$ , muy temprano en el inicio de la sepsis. Debido a un incremento en la permeabilidad capilar alveolar, se produce un incremento en el contenido de agua pulmonar, con disminución de la compliance pulmonar, e interferencia con el intercambio de oxígeno. Progresivamente se presentan, infiltrados pulmonares difusos, disminución mayor de la compliance pulmonar, e hipoxemia arterial, (frecuentemente refractaria a la administración de oxígeno suplementario, indicado la existencia de shunt de derecha a izquierda), características distintivas del distress respiratorio del adulto ARDS o “pulmón de shock”. El ARDS, se desarrolla en el 20 al 50% de los pacientes con sepsis, siendo la sepsis la



causa principal de este síndrome. La insuficiencia de los músculos respiratorios, puede exacerbar la hipoxemia y la hipercapnia. Una presión capilar pulmonar en cuña Pw elevada, (mayor de 18 mmHg), sugiere sobrecarga de volumen o insuficiencia cardiaca más que ARDS. Las neumonías causadas por ciertos virus y el *Pneumocystis Carinii*, resultan clínicamente indistinguibles del ARDS.

El Shock séptico, es una consecuencia de la caída severa de la resistencia vascular sistémica, una mal distribución generalizada del flujo sanguíneo, e hipovolemia funcional que se debe, al menos en parte, a extravasación capilar difusa del contenido intravascular. Otros factores que pueden disminuir el volumen intravascular efectivo incluyen la deshidratación por enfermedades precedentes o el aumento de las pérdidas insensibles, vómitos, diarreas y poliuria. El mantenimiento de un gasto cardiaco elevado, y la disminución de las resistencias vasculares sistémicas, distinguen el shock séptico del shock cardiogénico, obstructivo extracardiaco e hipovolémico. Otros factores que pueden producir semejantes alteraciones hemodinámicas, incluyen la anafilaxia, beriberi, cirrosis hepática y sobredosis de nitroprusiato o narcóticos.

#### CARACTERISTICAS HEMODINAMICAS DEL SHOCK SEPTICO.

	<i>HEMODINAMIA DE LA SEPSIS</i>		
	Fase previa.	Fase temprana.	Fase tardía.
Presión arterial.	Normal o baja.	Baja.	Muy baja.
Resistencia sistémica.	Baja.	Muy baja.	Variable.
Gasto cardiaco.	Muy elevado	Elevado.	Variable.
Respuesta al volumen.	+++	+	-
Respuesta catecolaminas.	++	+	-
Metabolismo ácido-básico.	AR	AR o AM.	AM

AR: alcalosis respiratoria. AM: acidosis metabólica.

La depresión de la función miocárdica, manifestada como un incremento de la presión diastólica final y el volumen sistólico ventricular, con una disminución subsecuente del volumen de eyección, se desarrolla en las primeras 24 horas en los pacientes con sepsis avanzada. El gasto cardiaco se mantiene a pesar de la caída en la presión de eyección, porque la

dilatación ventricular permite un volumen normal de choque, en pacientes que sobreviven, la función del miocardio retorna a lo normal en pocos días. Mientras la disfunción del miocardio, contribuye a la hipotensión, la hipotensión refractaria se debe a resistencias vasculares sistémicas bajas, y la muerte se produce en shock refractario, e insuficiencia múltiple de órganos, más que por insuficiencia del músculo cardíaco per se.

#### Complicaciones renales.

Con frecuencia se presenta oliguria, azoemia, proteinuria, y cilindruria inespecífica. Algunos pacientes presentan poliuria inapropiada, que se exagera en presencia de hiperglicemia. La mayor parte de las insuficiencias renales agudas se deben a necrosis tubular aguda inducida por hipotensión, o daño capilar, aunque algunos pacientes desarrollan glomerulonefritis, necrosis cortical renal, o nefritis intersticial. El daño renal producido por drogas puede agravar el cuadro clínico, particularmente en pacientes hipotensos que reciben aminoglucósidos.

#### Coagulación.

Aunque se presenta trombocitopenia en el 10 al 30% de los pacientes, el mecanismo subyacente permanece oscuro. El conteo de plaquetas generalmente es muy bajo y en pacientes con CID esta disminución de las plaquetas refleja daño endotelial difuso.

#### Complicaciones neurológicas.

Con frecuencia se produce la “polineuropatía del crítico”, la misma es el resultado del catabolismo proteico, las drogas utilizadas con actividad sobre la unión neuromuscular (relajantes, aminoglucósidos, etc), la ventilación mecánica, y la parálisis muscular. Generalmente es una polineuropatía simétrica, motora y distal. El diagnóstico se confirma mediante estudios electrofisiológicos. Esta entidad debe diferenciarse del síndrome de Guillan-Barré, de los disturbios metabólicos y de la actividad de las toxinas sobre el sistema nervioso periférico.

#### Hallazgos de laboratorio.

En la sepsis temprana, se presenta leucocitosis con desviación izquierda, trombocitopenia, hiperbilirrubinemia, y proteinuria. También es frecuente

encontrar leucopenia, sobre todo en individuos mal nutridos o con enfermedades crónicas. Los PMN pueden contener gránulos tóxicos (los cuales se cree, representan gránulos lisosomales prominentes), cuerpos de Dohle o vacuolas citoplasmáticas. Cuando la respuesta séptica se hace más severa, la trombocitopenia se hace más intensa (frecuentemente con prolongación del tiempo de trombina, disminución del fibrinógeno, y la presencia de dímeros D sugestivos de CID), la azoemia y la hiperbilirrubinemia aumentan al igual que los niveles de aminotransferasa. La hemólisis activa sugiere bacteriemia por clostridium, malaria, reacción a drogas o CID. En pacientes con CID se presentan además cambios microangiopáticos en la lámina periférica.

Durante la sepsis temprana, la hiperventilación induce alcalosis respiratoria, con el desarrollo de fatiga muscular y acumulación de lactatos, típicamente se presenta acidosis metabólica con anión gap aumentado. En la gasometría arterial, aparece hipoxemia, inicialmente reversible con la administración de oxígeno suplementario, pero luego se hace refractaria (con el decusar del síndrome) a la administración de oxígeno al 100%, reflejando la existencia de ARDS y la presencia de un alto por ciento de Shunt pulmonar de derecha a izquierda. Las radiografías de tórax pueden mostrar evidencias de neumonías subyacentes, sobrecarga de volumen, o infiltrados difusos propios del ARDS. En el EKG se detecta taquicardia sinusal y alteraciones inespecíficas del segmento ST y onda T.

La mayoría de los pacientes con sepsis desarrollan hiperglicemia. Las infecciones severas precipitan la cetoacidosis diabética, que puede exacerbar la hipotensión. Raramente se presenta hipoglicemia. Los niveles de albúmina sérica, inicialmente en valores normales, disminuyen con el desarrollo de la sepsis. Los niveles séricos de lípidos usualmente se encuentran elevados.

### Diagnóstico.

No existen pruebas diagnósticas específicas. Los hallazgos más prominentes en pacientes con infecciones probadas o supuesta incluyen fiebre o hipotermia, taquipnea, taquicardia, leucocitosis o leucopenia, alteraciones agudas del status mental, trombocitopenia e hipotensión. Sin embargo, la respuesta séptica puede ser muy variable, en un estudio a gran escala el 36% de los pacientes sépticos presentó temperatura normal, el 40 % frecuencia respiratoria normal, el 10% pulso radial normal y el 36% presentó un conteo de leucocitos normales. Además, la respuesta sistémica de otros pacientes no infectados, puede ser similar en sus características a la de los pacientes sépticos. Dentro de las etiologías no infecciosas del SRIS se encuentran; la pancreatitis, las quemaduras, los traumas, la

insuficiencia renal, el embolismo pulmonar, la anafilaxia y el abuso de drogas.

El diagnóstico etiológico definitivo requiere del aislamiento del microorganismo de la sangre o del tejido infectado. Al menos dos muestras de sangre (10 ml), deben tomarse de diferentes sitios de venopunturas para cultivos. Debido a que las bacterias Gram negativas típicamente presentan un bajo grado de crecimiento (menos de 10 microorganismos por ml de sangre), se hace necesario múltiples cultivos o periodos prolongados de incubación. El *Staphylococcus aureus*, crece mucho más fácilmente, y se detecta, generalmente dentro de las primeras 48 horas. En muchos casos los hemocultivos se presentan persistentemente negativos, esta situación, puede reflejar: uso de antibióticos previos, la presencia o crecimiento de contaminantes, o la ausencia de invasión bacteriana de la sangre. En estas situaciones coloraciones y cultivos de material procedente del sitio primario de la infección, o de lesiones cutáneas infectadas puede ayudar a establecer el diagnóstico etiológico. La piel y las mucosas deben examinarse de forma cuidadosa y repetida en busca de lesiones que pueden ayudar a establecer el diagnóstico etiológico. En bacteriemias fulminantes, como ocurre en la sepsis por *Pneumococcus* en pacientes esplenectomizados, o en la meningococemia fulminante, los microorganismos frecuentemente resultan visibles en tinciones directas de la sangre periférica.

La detección de endotoxinas en sangre y niveles de IL-6, se correlacionan bien con un pobre pronóstico, pero estas técnicas no han sido bien estandarizadas y presentan valor práctico muy limitado.

La sepsis puede matar rápidamente, su manejo exitoso, requiere de medidas urgentes para tratar la infección local, proveer soporte hemodinámico, ventilatorio y eliminar los organismos ofensores.

Tratamiento.

Agentes antimicrobianos.

El tratamiento antimicrobiano debe iniciarse tan pronto se hayan tomado las muestras para estudios microbiológicos. La elección del tratamiento inicial se basa en el conocimiento de los patógenos potenciales, en el tipo y lugar de la infección. También deben tenerse en cuenta, el conocimiento sobre la susceptibilidad de los patógenos potenciales aislados en el hospital y la comunidad. Si el paciente se encuentra grave, debe iniciarse la administración de antibióticos de amplio espectro, bactericidas, a dosis máximas y por vía intravenosa, en caso de insuficiencia renal se reajustará la dosis.

Cuando se reciban los resultados de los cultivos indicados, el tratamiento puede ser simplificado y en ocasiones sólo es necesario un único agente antimicrobiano para el tratamiento de un patógeno conocido. La duración del tratamiento depende del lugar de la infección, la posibilidad de drenaje quirúrgico, enfermedad subyacente y la susceptibilidad de la bacteria aislada.

#### TRATAMIENTO EMPÍRICO PARA LA SEPSIS GRAVE DE ORIGEN DESCONOCIDO.

NEONATOS	Enterobacterias. Listeria. Estreptococos Grupo B. Enterococcus.	Ampicillin + Cefotaxime. ó Gentamicina + Nafcillin.
NIÑOS	Pneumococcus. H. influenzae. Meningococcus. S. aureus.	Cefotaxime ó Ceftriaxone Con o sin Nafcillin.
ADULTOS		
Adquirida en la comunidad.	Enterobacterias. S. aureus. Estreptococo.	Ceftriaxone + Aminoglucósidos.
Drogadictos.	S. aureus. Organismos Gram-negativos Enterococcus.	Penicilina + Gentamicina + Nafcillin.
Inmunocomprometidos y Neutropénicos. (cualquier edad).	Organismos Gram-negativos. P. aeruginosa. S. aureus. S. epidermidis.	Ceftazidime + Aminoglucósido Con o sin Vancomicina. ó Piperacillin/tazobactam + Aminoglucósido + Imipenem ó Meropenem.

RECOMENDACIONES EMPÍRICAS PARA LA SEPSIS DE ORIGEN CONOCIDO.

ORIGEN.	ORGANISMO PROBABLE.	RECOMENDACIONES
Abdominal/pélvico.	Enterobacterias. Anaerobios. Enterococcus.	Ampicillin/sulbactam + Aminoglucósido ó Ampicillin + Metronidazol + Aminoglucósido ó Imipenem.
Urinario.	Enterobacterias. Enterococcus.	Ampicillin + Aminoglucósido ó III generación de cefalosporinas + Aminoglucósido ó Quinolona.
Rash petequiral / niños.	Meningococcus. H. influenzae.	Cefotaxime o ceftriaxone.
Rash petequiral /adultos.	Meningococcus Bacilos Gram-negativos.	III generación de cefalosporinas + Aminoglucósido. (Ceftazidime si se sospecha Pseudomona).

Dosis recomendadas en pacientes con función renal normal.

Nafcillin o Oxacillin (2 g q4h).

Ceftriaxone (1-2 g q12h).

Ticarcillin-clavulónico (3.1 g q4-6h).

Piperacillin-tazobactam (3.75 g q4-6h).

Gentamicina o tobramicina (5 mg/kg q24h).

Imipenem-cilastatina (0.5 g q6h).

Meropenem (1g q8h).

Ampicillin (30 mg/kg q4h).

Metronidazol (500 mg q8h).

Ciprofloxacina (400 mg q12h).

Aztreonam (2 g q8h).

Cefotaxime (2 g q4h).

Ceftriaxone (2 g q12h).

Ceftazidime (2 g q8h)

Cefepime (2 g q12h).

Vancomicina (15 mg/kg q12h) y Ceftazidime sólo deben utilizarse si se sospecha *Staphylococcus*, si el paciente presenta dispositivos intravasculares infectados, si ha recibido profilaxis con quinolonas, o ha recibido tratamiento con quimioterapia que haya producido daño intenso sobre la mucosa y existe en el medio ambiente alta incidencia de *Staphylococcus* resistentes al Meticillin.

Remoción del origen de la infección.

Resulta esencial la remoción y el drenaje del sitio de la infección. La posibilidad de un sitio de infección oculto, obliga a exámenes cuidadosos a repetición. Los catéteres intravenosos deben de removerse y cultivar su punta e insertar los nuevos catéter en sitios diferentes. Los catéteres de drenaje y sondas también deben sustituirse, la posibilidad de sinusitis maxilar, frecuentemente producida por gérmenes Gram negativos intrahospitalarios, se tendrá en cuenta si el paciente ha sido sometido a intubación endotraqueal. En los pacientes neutropénicos, se examinará cuidadosamente las regiones de la piel sensibles y enrojecidas, particularmente en la región perianal. En pacientes con úlceras de decúbito sacras o isquiales, es importante excluir colecciones pélvicas y en tejidos blandos, siendo en ocasiones necesaria el examen por tomografía computada y la resonancia magnética. Si se sospecha que el sitio de la infección se encuentra en el tracto urinario, deben indicarse los estudios necesarios para excluir obstrucción uretral, abscesos perinéfricos y abscesos renales.

Tratamiento del deterioro hemodinámico y el shock.

Iniciar de inmediato el monitoreo hemodinámico invasivo.

Restitución de la volemia y soporte cardiovascular.

El tipo de fluido a administrar es aún muy discutido. Los proponentes de los coloides manifiestan que éstos restauran el volumen y la presión coloidosmótica con mayor rapidez y efectividad y por estas razones estarían más indicados cuando se desea incrementar urgentemente el transporte de oxígeno, si la hipovolemia y la hipotensión son inicialmente muy pronunciadas algunos prefieren iniciar el tratamiento con coloides o gelatinas. La cantidad de cristaloides que escapa al intersticio es del 70%, y la de los coloides es imprevisible y está en dependencia del daño microvascular.

Los proponentes de los cristaloides mantienen que estos pueden restituir la hemodinamia, que son más económicos, y que los coloides escapan también al intersticio (con el aumento de la permeabilidad cardiovascular). No se ha demostrado la superioridad de uno sobre el otro.

Los cristaloides tienen uso indiscutible cuando existe reducción del agua intracelular y los coloides cuando la hipovolemia es parte del shock y la restauración de la función hemodinámica es urgente. Se utiliza plasma fresco congelado cuando existen trastornos de la coagulación asociados y glóbulos cuando existe anemia y se desea incrementar el transporte de oxígeno.

Cuando la reposición energética de fluidos no logra restituir las presiones de llenado ventricular y persiste la hipoxia hística y la acidosis, es preciso elevar la presión de perfusión por medio de agentes inotrópicos y presores.

Utilizar dopamina si hipotensión con gasto cardiaco normal.

Utilizar dobutamina si hipotensión y bajo gasto cardiaco.

Utilizar noradrenalina si tras el uso de los anteriores agentes presores perdiste la hipotensión.

La dopamina a dosis entre 2.5-5 mcg/Kg/min, posee efecto sobre los receptores dopaminérgicos y beta e incrementa la diuresis, la natriuresis y la contractilidad miocárdica, con dosis moderadas entre 5-15 mcg/Kg/min, presenta además efectos alfa, y logra elevar la presión arterial media manteniendo los efectos dopaminérgicos e inotrópicos que podrían evitar el descenso del gasto cardiaco, y el aumento de la resistencia vascular periférica y la tensión arterial. Si fracasan las anteriores medidas para restaurar la hemodinamia se administra noradrenalina a razón de 0.05-1.5 mcg/Kg/min, y se disminuye la dopamina a dosis dopaminérgicas para mantener la estimulación renal.

Cuando coexisten hipotensión arterial y bajo gasto, el fármaco de elección es la dobutamina (5-20 mcg/Kg/min), por sus efectos predominantes sobre los receptores beta 1, la dobutamina carece de actividad sobre los receptores renales delta, por lo que también suele asociarse a dosis bajas de dopamina.



La dobutamina tiene menor efecto vasodilatador, cronotrópico, y arritmogénico que el isoproterenol y por eso ha sustituido a éste en la práctica diaria. El isoproterenol sólo estaría indicado, si se desea aumentar el gasto cardiaco en presencia de TA sistémica normal, bradicardia, broncoconstricción e hipertensión pulmonar. La dobutamina contribuye a mantener el gasto cardiaco ante la elevación de la resistencia vascular sistémica producida por la adrenalina y la noradrenalina.

Se ha demostrado que las endorfinas endógenas actúan sobre receptores opiáceos y deprimen la función cardiovascular reduciendo la TA y el GC. La naloxona, antagonista de los receptores opioides, contrarresta estos efectos en animales de experimentación. Las dosis deben ser elevadas porque la naloxona es un antagonista no selectivo de los receptores opiáceos. La naloxona estaría indicada en fases tempranas del shock, cuando los niveles de endorfinas son más elevados y en ausencia de acidosis e hipotermia ya que estas reducen los niveles de endorfinas. La naloxona se elimina por glucoronización hepática y renal por lo cual sus niveles aumentan en la insuficiencia de estos órganos

Soporte respiratorio.

Las demandas de oxígeno están aumentadas durante la sepsis, por lo cual su administración durante la sepsis es habitual, el uso de CPAP y PEEP, son medidas complementarias para mejorar la oxigenación.

Durante la sepsis el trabajo de los músculos respiratorios y su consumo de oxígeno están muy aumentados, siendo este un criterio de relajación y ventilación adicional, buscando disminuir las demandas metabólicas de la musculatura respiratoria

Prevención y tratamiento de la insuficiencia renal.

El riñón es un órgano clave en el pronóstico y tratamiento del síndrome séptico. La reposición enérgica de volumen y el uso de dopamina a dosis dopaminérgicas tiene entre otras funciones el objetivo de mantener una adecuada perfusión y protección renal. El uso de hemoderivados es potencialmente lesivo para el riñón, por lo cual se recomienda un uso racional de hemoderivados de la mayor compatibilidad posible. Se recomienda evitar el uso de antibióticos nefrotóxicos y de ser imprescindible su uso la dosis debe ajustarse según los niveles de filtración glomerular.

## Tratamiento de la CID.

La coagulación intravascular diseminada es un síndrome clínico siempre secundario, y su mejor forma de prevención y tratamiento es el control del proceso séptico. La terapéutica de remplazo de las plaquetas y los factores de coagulación consumidos será establecida de inmediato tratando de mantener la supervivencia mientras los antibióticos logran el control de la infección, con tal finalidad se utilizan los concentrados de plaquetas, crioprecipitados y el plasma fresco congelado.

La heparina que teóricamente detiene el consumo de plaquetas y factores de la coagulación al impedir la microcoagulación durante la CID, tiene el riesgo de hacer más profusos los sangramientos. El uso de antifibrinolíticos está formalmente contraindicado.

## Soporte nutricional.

Los requerimientos metabólicos de la sepsis graves están en el orden de las 60 kcal/Kg de peso por lo cual es necesario establecer dietas de alto contenido nutricional y calórico. Ningún preparado de alimentación parenteral, ha logrado ser superior a la alimentación oral correctamente establecida, que resulta más económica y previene el daño del intestino durante la sepsis. En ocasiones la presencia de sangramientos digestivos y la ausencia de tránsito intestinal, obligan a una alimentación parenteral total.

Como hemos visto, uno de los objetivos primarios del tratamiento es restituir una adecuada entrega de oxígeno y sustrato a los tejidos, la perfusión adecuada de los diferentes órganos resulta esencial. En los pacientes sépticos, resulta común la depleción intravascular de volumen efectivo y el manejo inicial de la hipotensión debe incluir la administración de líquidos intravenosos, como promedio de 1 a 2 litros de solución salina en la primera hora. Es obligatorio el monitoreo de la presión venosa central y la presión capilar pulmonar en cuña, sobre todo en pacientes con shock refractario o cuando se sospeche insuficiencia cardíaca o renal de base. Para evitar edema pulmonar se mantendrá la presión pulmonar en cuña en un rango entre 14 y 18 mmHg y la presión venosa central, entre 10 a 12 cm de agua. Debe administrarse una infusión continua de líquidos que garantice una diuresis superior a 30 ml/hora. Si es necesario, se administrará tratamiento con diuréticos y apoyo renal con dopamina a dosis delta (dosis dopaminérgica). En aproximadamente la tercera parte de los pacientes, la hipotensión responde a la resucitación con fluidos, un objetivo razonable es el mantenimiento de la presión arterial media mayor de 60

mmHg, la presión arterial sistólica mayor de 90 mmHg y un índice cardiaco superior a 4 l/min/mm<sup>2</sup>. Si estos parámetros no se alcanzan con la administración generosa de volumen, esta indicada el tratamiento con fármacos vasopresores y agentes inotrópicos.

Es aconsejable descartar la posibilidad de insuficiencia adrenal, en pacientes con hipotensión refractaria, bacteriemia fulminante por *N* meningitidis, uso previo de esteroides, tuberculosis diseminada o pacientes con SIDA. La prueba de estimulación con cosintropina (1-24 ACTH) puede sugerir el diagnóstico de insuficiencia adrenal parcial o total. Debe administrarse hidrocortisona suplementaria a razón de 50 mg intravenosos cada 6 horas, mientras se espera por los resultados de las pruebas de estimulación suprarrenal.

La ventilación mecánica está indicada cuando se presenta hipoxemia progresiva, hipercapnia, deterioro neurológico o fatiga de los músculos pulmonares. Las transfusiones de glóbulos rojos están indicadas si las cifra de hemoglobina desciende por debajo de 10 g/dl. Se administra bicarbonato cuando se presenta acidosis metabólica severa (pH arterial menor de 7.2). En los pacientes con sepsis prolongadas el soporte nutricional precoz disminuye el impacto del autocanibalismo séptico y mejora el pronóstico.

### Otras modalidades terapéuticas en investigación

A pesar del tratamiento agresivo, muchos pacientes sépticos mueren. En la actualidad se investiga de forma intensa con dos diferentes tipos de agentes:

1. Drogas que neutralizan las endotoxinas bacterianas y resultan útiles en los pacientes con infecciones por gérmenes Gram negativos.
2. Drogas que interfieran con uno o más mediadores proinflamatorios y por tanto resultarían útiles en todos los pacientes sépticos.

Agentes con actividad contra las endotoxinas.

La fracción de lípido A, presente en las bacterias Gram negativas, es el componente más nocivo de las endotoxinas. A pesar de los muchos esfuerzos para desarrollar drogas que se unan al lípido A y neutralicen las endotoxinas in vivo, los resultados han sido poco alentadores. En estudios a doble ciega, con placebo, dos anticuerpos monoclonales evaluados para prevenir la acción de las endotoxinas, han fracasado, alegándose para ello, que no se unían a los LPS con gran afinidad. Hasta la fecha, el agente más prometedor dentro de los evaluados, es la proteína bactericida incrementadora de la permeabilidad (bactericidal permeability-increasing protein), una proteína humana neutrófila potente, que neutraliza la

toxicidad del lípido A, y puede resultar bactericida para muchos microorganismos. Otros compuestos en investigación, incluyen análogos no tóxicos del lípido A los cuales reducen las respuestas del huésped a las endotoxinas, un conjugado de polimixina B-dextrán, con capacidad para unirse y neutralizar a las endotoxinas y lipoproteínas, (como las lipoproteínas de alta densidad) en la circulación.

Otros ensayos terapéuticos.

Greenman y colaboradores demostraron que un breve curso de antiendotoxina E5 mejora la supervivencia en pacientes con sepsis graves por Gram-negativos y prevenía la aparición de la insuficiencia múltiple de órganos, cuando se aplica antes de la etapa de shock refractario (JAMA, vol. 266, p. 1097,1991). Sin embargo Wensel y colaboradores reportaron que la administración de antiendotoxina E5 no mejoró la supervivencia.

Análisis retrospectivos han demostrado una reducción del 22% en la mortalidad de pacientes tratados con agonistas de receptores de IL-1. Wherry en un estudio de fase III, utilizando anticuerpos anti-FNT, no encontró beneficios en pacientes con sepsis y shock, demostró además un beneficio dosis dependiente en pacientes sin hipotensión.

Desdichadamente, numerosos agentes que interfieren directa o indirectamente con la acción de los mediadores inflamatorios, no han logrado prevenir la muerte de los pacientes con sepsis severa. Dentro de las drogas que no han demostrado ser efectivas se encuentran: metilprednisolona, antagonistas de los receptores de IL-1 recombinante, receptores solubles para FNT-alfa obtenidos por ingeniería genética, anticuerpos monoclonales contra FNT-alfa. Debido, a que sin dudas, el FNT-alfa y la IL-1, juegan un papel importante en la defensa antimicrobiana del huésped, el antagonizar a estas citokinas puede ir en detrimento de los pacientes en algunos casos. En realidad, los estudios recientes sugieren, que muchas moléculas anti-inflamatorias, pueden estar presentes en altas concentraciones en el plasma de los pacientes en shock séptico. Identificar los regímenes de tratamiento beneficioso con drogas que neutralicen los efectos del FNT-alfa y la IL-1, puede resultar una tarea muy difícil. Otros compuestos evaluados en estudios recientes incluyen: antagonistas del FAP, antagonistas de la bradikinina e ibuprofeno. Otros agentes adicionales incluyen a la pentoxifilina, la hormona melanocito estimulante, ketoconazol, inhibidores de la óxido nítrico sintetasa, y proteínas anticoagulantes recombinantes.

Todas estas drogas han sido evaluadas en pacientes con sepsis severa o shock séptico, y ninguna investigación ha evaluado su capacidad para

prevenir la sepsis severa o el shock séptico en pacientes de alto riesgo o el valor de combinaciones terapéuticas de dos o más drogas.

Hasta la fecha no ha sido convincentemente demostrada la efectividad de los siguientes medicamentos, esteroides, ibuprofeno, pentoxifilina, naloxona, glucagón, prostaciclina, eliminadores de radicales libres de oxígeno, anticuerpos monoclonales anti FNT, antagonistas de los receptores de IL-1, inmunoglobulinas anti C5, surfactante y antitrombina III.

## PRONOSTICO.

Aproximadamente el 25 al 35% de los pacientes con sepsis severa y el 40 al 55% de los pacientes en shock séptico mueren dentro de los primeros 30 días, otros mueren en los 5 meses posteriores. Las muertes tardías resultan de infecciones mal controladas, complicaciones de los cuidados intensivos, fallo multiorgánico y otras enfermedades subyacentes. La edad es el factor que mayor correlación guarda con la mortalidad. Los casos fatales ocurren en igual proporción en pacientes con cultivos positivos o cultivos negativos.

## PREVENCIÓN.

La prevención es la mejor manera de disminuir la mortalidad por sepsis. Muchos de los episodios de sepsis severa y shock séptico resultan nosocomiales, estos casos pueden prevenirse reduciendo el número de procedimientos invasivos, limitando el uso y la duración de catéteres y sondas y con una terapéutica más agresiva en infecciones nosocomiales localizadas. Las evidencias resaltan la utilidad de la alimentación enteral precoz en pacientes politraumatizados con riesgo de infección. Debe evitarse el uso indiscriminado de agentes antimicrobianos y esteroides. Además, resulta imperativo el manejo urgente y agresivo de pacientes con sospecha de sepsis. Las investigaciones actuales están dirigidas a identificar pacientes en alto riesgo de desarrollar sepsis severa, y desarrollar nuevos agentes que puedan bloquear la respuesta séptica SIRS antes de que se desarrolle hipotensión severa y disfunción de órganos.

## ***MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA; NUEVA PERSPECTIVA TERAPÉUTICA.***

El tratamiento de la sepsis se ha focalizado en neutralizar mediadores específicos, inhibir células dianas o los efectos sobre el órgano terminal. Debido a la gran variedad de mediadores proinflamatorios descritos hasta la fecha, el gran dilema consiste en discernir cuales variables resulten exitosas. La siguiente sección ilustra alguna de estas aproximaciones terapéuticas y analiza futuros tratamientos.

Mediadores inflamatorios exógenos.

Las investigaciones sobre los mediadores exógenos se basan en interferir los efectos sistémicos causados por las endotoxinas en la sepsis por gram-negativos. Los anticuerpos antiendotoxinas y sus análogos, previenen la unión de las endotoxinas a sus receptores. En estudios humanos utilizando anticuerpos monoclonales (E5 y HA-1A), se han encontrados resultados no concluyentes y en ocasiones no satisfactorios. En el estudio inicial con E5, utilizando IgM de ratones, que reaccionan con el lípido A, se encontró una significativa reducción de la mortalidad a los 30 días (30% en el grupo control, 43% en el grupo placebo), en pacientes con infecciones por Gram negativos que no se encontraban en shock refractario.

Los beneficios del tratamiento con E5, no han podido ser demostrados en pacientes en shock séptico por gérmenes Gram positivos o en pacientes con sepsis de otra etiología. Además, en un estudio prospectivo en 847 pacientes, no se demostró mejoría de la supervivencia a los 30 días en pacientes con sepsis a Gram negativos cuando se compararon con el placebo. Aunque, un porcentaje mucho mayor de los pacientes con sepsis por gram-negativos experimentó resolución de la insuficiencia de órganos cuando recibían E5 en comparación con los placebos; no pudo demostrarse ventajas sobre la supervivencia. En el estudio HA-1A, utilizando anticuerpos IgM humanos, disminuyó la mortalidad a los 28 días en un 39%, en pacientes con bacteriemia a Gram negativos.

En estos estudios con anticuerpos monoclonales, discrepancias en los grupos de pacientes con posible beneficio, junto con preocupaciones sobre el diseño de la investigación y el costo futuro de la terapéutica, han disminuido el optimismo de los reportes iniciales.

También ha sido estudiado el uso de bloqueadores químicos de los receptores de endotoxinas, incluyendo derivados no tóxicos del lípido A

(tales como lípido A monofosforilado, lípido X y lípido IVA). Estos compuestos inducen una producción de citokinas en un grado mucho menor, pero mantienen mucho de los beneficios de la actividad inmunomoduladora de las endotoxinas, incluyendo el aumento de la resistencia no específica a las infecciones y tolerancia a las endotoxinas. Experimentalmente, se ha demostrado aumento de la supervivencia con el uso de estos agentes bloqueadores, la principal dificultad con su uso efectivo, radica en la necesidad de su administración antes o muy temprano en el curso de la endotoxemia que media la inflamación sistémica.

Otros agentes han sido estudiados recientemente y parecen ser mucho más efectivos en modelos experimentales que los agentes neutralizantes de endotoxinas. Estos compuestos incluyen proteína bactericida incrementadora de la permeabilidad (PBI), proteínas antimicrobianas catiónicas, polimixina B conjugada con dextrán, limulus factor antilipopolisacárido y antagonista de LPS. Además, el mejor entendimiento de cómo las endotoxinas median la liberación de citokinas ha conducido a estudios de inhibición de CD14 y LBP. La inhibición de PLS/LBP unidos a la célula por anticuerpos contra CD 14 suprime una gran cantidad de respuestas de los macrófagos y neutrófilos hacia los LPS. Los anticuerpos contra LBP inhiben la respuesta celular a bajas concentraciones de PLS in vitro y protege a ratones de experimentación contra exposiciones letales con PLS o lípido A. La quimérica ilusión de LPS y BPI que es capaz de neutralizar endotoxinas pero tiene una mayor vida media en la circulación que BPI también ha sido estudiada. Una de estas proteínas ha demostrado actividad protectora contra la exposición a LPS en animales.

La taurolidina es un derivado de aminoácido con propiedades bactericidas, antiendotóxicas y antiadherentes. La taurolidina previene los efectos letales de los LPS cuando se administra en modelos animales inmediatamente antes de la administración de endotoxinas. Aunque en estudios bien controlados en humanos ingresados por sepsis en unidades de cuidados intensivos, estos resultados no han podido demostrarse.

### Regulación de citokinas.

El aumento de los conocimientos sobre las funciones de las citokinas y los mecanismos de autorregulación, ha conducido a intentos experimentales de atenuar las citokinas proinflamatorias o aprovechar las citokinas antiinflamatorias. Dos importantes citokinas proinflamatorias liberadas temprano en la cascada inflamatoria han sido estudiadas de forma detallada: el FNT-alfa y la IL-1. Se han desarrollado anticuerpos monoclonales contra ambas y los resultados obtenidos han sido complejos.

Los estudios en animales utilizando anticuerpos contra el FNT-alfa, demostraron una mayor supervivencia en animales posteriormente expuestos a LPS. En un ensayo de fase III utilizando anticuerpos monoclonales murinos contra FNT-alfa, en pacientes con sepsis severa (ensayo INTERSEPT), 536 pacientes fueron randomizados para recibir placebo, 3 mg/Kg de anticuerpos o 15 mg/Kg de anticuerpos; no encontrándose diferencias significativas. Aunque entre los 247 pacientes que sobrevivieron a los 28 días, hubo una reversión más rápida del shock y sus efectos lo cual sugiere efectos beneficiosos con la aplicación de estos anticuerpos.

Un enfoque alternativo para la inhibición de FNT-alfa, ha sido el uso de receptores de FNT-alfa solubles (STNFRs). Estos productos proteolíticos de la división de los dominios (domains) de los dos receptores de FNT-alfa, se encuentran en el suero de pacientes con sepsis y parecen actuar como transportadores de FNT-alfa y como antagonistas. En un modelo experimental en monos babunes con shock séptico por *Escherichia coli*, la muerte fue prevenida con la administración de STNFR, iguales resultados se obtuvieron en ratones a los cuales se le administró LPS. En estos momentos múltiples estudios prospectivos se están desarrollando en humanos pero los resultados no han sido concluyentes.

También ha sido posible sintetizar un antagonista de los receptores de IL-1 circulante (IL-1ra), el uso de IL-1ra recombinante no glicosilada, bloquea la hipotensión y la inflamación pulmonar en el shock experimental en conejos y ratones. Un estudio en 99 humanos con síndrome séptico reportó una reducción significativa de la mortalidad a los 28 días dosis – dependiente. Aunque, otros estudios en humanos (estudio de fase III, en 893 pacientes) no pudieron demostrar estos beneficios. En el mismo estudio un análisis post hoc de 595 pacientes con un Acute Physiology and Chronic Health Evaluation III (APACHE III), el estimado del riesgo de muerte excedía el 24%, lo cual demuestra una modesta reducción de la mortalidad cuando se compara con el placebo.

También han sido desarrollados anticuerpos contra los receptores de IL-1 y aparentemente logran bloquear la respuesta inflamatoria sistémica provocada por IL-1. Por ejemplo, los anticuerpos dirigidos contra los receptores de IL-1 tipo I, previenen el influjo de neutrófilos, la síntesis de la proteína amiloidea A sérica y los niveles circulantes de IL-6 en ratones. Además, el bloqueo de los receptores de IL-1 tipo II en humanos, bloquea la fiebre, neutrofilia e inmunomodulación inducida por IL-1.

Estudios recientes demuestran que otras citocinas también resultan importantes moduladores de la inflamación sistémica. Un estudio demostró



que aunque los niveles de FNT-alfa e IL-6, se encuentran elevados tanto en pacientes con shock séptico, como en pacientes con shock de otra etiología, fue la persistencia de estas citokinas la que se acompañó del peor pronóstico. La importancia de la IL-6 también quedó demostrada cuando se administró anticuerpos monoclonales dirigidos contra IL-6 junto con E. coli o FNT-alfa, demostrándose un aumento de la supervivencia. El interferón gamma, que induce activación de macrófagos, también se encuentra en niveles elevados en el shock séptico. El tratamiento de ratones con anticuerpos monoclonales dirigidos contra interferón gamma, induce una protección significativa contra las endotoxinas cuando se administra simultáneamente o dos horas después de la administración de LPS.

Otras citokinas también han demostrado propiedades que pueden resultar muy útiles en la modulación de la inflamación sistémica. La interleukina 4, una linfocina derivada de las células T, contrarregula la expresión de RNAm de IL-1beta, FNT-alfa e IL-6 en monocitos estimulados por LPS mientras estimulan la síntesis de IL-1ra. La IL-10, producida por las células B, las células T helper y los monocitos/macrófagos, han demostrado inhibir la liberación de numerosas citokinas, incluyendo IL-1, IL-6, IL-8, FNT-alfa y factor estimulante de colonias granulocito-macrófagos (GM-CSF). Además, en ratones tratados con anti IL-10, se demostró una mortalidad 50 veces mayor en el shock inducido por endotoxinas y la expresión del RNAm para IL-10, se correlacionó con la recuperación en la encefalitis autoinmune experimental. Otra citokina inmunomoduladora, IL-12, aparentemente media muchas de sus actividades biológicas a través del incremento de la producción de interferón gamma en células humanas NK y T. La IL-12 juega un importante rol como pivote en la iniciación de la inmunidad mediada por células a través de la regulación de subpoblaciones de linfocitos T (TH<sub>1</sub> y TH<sub>2</sub>).

El tratamiento profiláctico de animales con IL-12 recombinante, aumenta la supervivencia después de las infecciones por organismos Gram positivos como la *Listeria monocytogenes* y el *Staphylococcus aureus*. Existe gran interés en el uso de IL-12 como agente antitumoral y antimetastásico.

Inhibición de neutrófilos y sus productos.

El tratamiento dirigido contra los neutrófilos o sus productos inflamatorios incluye:

1. Modulación de la activación de los neutrófilos o quimiotaxis.
2. Prevención de la adhesión de los neutrófilos al endotelio.

### 3. Neutralización de los productos inflamatorios con el uso de antioxidantes, depuradores de radicales libres e inhibidores de las proteasas.

Dentro de los moduladores específicos de la función de los neutrófilos se encuentran pentoxifilina, la cual reduce la adhesión de los neutrófilos activos al endotelio, y disminuye la liberación de enzimas lisosomales y los radicales tóxicos de oxígeno. La pentoxifilina incrementa la supervivencia en algunos modelos animales de sepsis, aún cuando se administre cuatro horas después de la administración de las endotoxinas. La administración intravenosa de pentoxifilina a humanos sanos, bloquea la liberación de FNT-alfa durante la endotoxemia.

La adenosina también altera la función de las células polimorfonucleares mediante la disminución de su adherencia, inhibiendo la formación de aniones superóxidos o reduciendo la activación celular al inhibir la producción de FNT-alfa. Se ha demostrado además, que reduce la extensión de la injuria por reperfusión, inhibiendo el daño mediado por neutrófilos sobre las células endoteliales.

Algunas antiproteasas han demostrado neutralizar las enzimas proteolíticas liberadas por los neutrófilos durante la injuria pulmonar. Dentro de los agentes terapéuticos potenciales se encuentran: hirudina, antitrombina III, eglin C, antielastasa, aprotinina y aprotinina Arg15. Los estudios en animales han demostrado que los inhibidores de las proteasas, reducen el daño pulmonar en la endotoxemia.

Los PMNs liberan numerosos derivados superóxidos que resultan importantes mediadores del daño tisular. Dentro de los antioxidantes en estudio se encuentran inhibidores de la xantina oxidasa, superóxido dismutasa, catalasas, NADPH (nicotin-adenín dinucleótido fosfato reducido), inhibidores de las oxidasas, deferoxamina y N-acetilcisteína. Una forma recombinante de superóxido dismutasa ha sido utilizada en pacientes politraumatizados, aunque estudios a gran escala no han sido realizados. El inhibidor de la oxidasa de NADPH, apocinina ha demostrado atenuar el daño pulmonar inducido por sepsis en animales de experimentación. Un grupo de compuestos sintéticos conocidos como nitrones, se une por enlaces covalentes a los radicales libres para formar moléculas no tóxicas y en las ratas reducen tanto el daño microcirculatorio, como la mortalidad después de la infusión de endotoxinas.

Algunos grupos de receptores específicos sobre los neutrófilos y la superficie de las células endoteliales, median la marginación de los neutrófilos y el enrodamiento (rolling) endotelial y de este modo, conduce

a la adherencia y transmigración hacia sitios inflamatorios. Estos receptores incluyen integrinas, lectinas, ICAMs y ELAMs. El bloqueo de la adherencia de los neutrófilos y su migración previene el daño tisular en numerosas situaciones inflamatorias. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales, 1B4, dirigidos contra el CD 18 (la subunidad beta de las neutrófilos beta2-integrinas). Previene el daño tisular en modelos animales de isquemia y meningoencefalitis. Los anticuerpos monoclonales contra L-selectina, inhibe la migración de los linfocitos hacia los nódulos linfáticos periféricos además de inhibir la acumulación de neutrófilos en los sitios de inflamación. Los anticuerpos monoclonales contra E-selectina, inhiben el daño mediado por neutrófilos, sobre el endotelio vascular durante la inflamación pulmonar aguda. De forma similar, los anticuerpos monoclonales contra P-selectina poseen un efecto protector contra el daño pulmonar producido por el factor del veneno de cobra sobre el lecho vascular de las ratas.

#### Modulación del sistema de la coagulación.

Varios ensayos terapéuticos han sido diseñados para limitar la activación del sistema de la coagulación, a través de la inhibición o la inactivación de factores de la coagulación o reduciendo la agregación plaquetaria. Aunque la mayoría de estos intentos no han sido demostrado en estudios bien diseñados. Un ejemplo, es la antitrombina III, un inhibidor natural tanto de la vía directa como de la vía por contacto de la coagulación. La administración de la antitrombina III reduce el daño tisular y la mortalidad en modelos animales con endotoxinas y sepsis. La antitrombina III resulta beneficiosa en pacientes sépticos complicados con coagulación intravascular diseminada (CID). En un estudio controlado en 42 pacientes, hubo una mayor supervivencia en los pacientes que recibieron plasma fresco más antitrombina III. En otro estudio controlado con placebo, y antitrombina III se demostró una disminución de las complicaciones por CID, pero la mortalidad no disminuyó en relación con grupo no tratado.

En pacientes sépticos y politraumatizados se encuentran niveles reducidos de proteína C y S. se ha demostrado que el remplazo de proteína C, modifica la activación de la coagulación en babunes después de la administración de E coli. Se han desarrollado inhibidores específicos de la vía de contacto, incluyendo anticuerpos monoclonales contra el factor XII y el factor tisular. Estos agentes han demostrado ser inhibidores efectivos de las coagulopatías en modelos animales de sepsis, aunque no han sido desarrollados estudios en humanos. La unión de la trombomodulina a la trombina no sólo activa la proteína C, sino que además reduce la actividad de la trombina, incluyendo su propiedad de activar las plaquetas y el factor

XIII y convertir el fibrinógeno en fibrina. La administración de trombomodulina recombinante humana a ratas, disminuye la generación de fibrinógeno y plaquetas inducida por PLS, e incrementa el nivel de los productos de degradación de la fibrina.

El óxido nítrico es un potente inhibidor de la agregación plaquetaria, pero también resulta un potente vasodilatador y ha sido responsabilizado como el agente más importante en la génesis de la hipotensión inducida por sepsis. Han sido desarrollados inhibidores de la óxido nítrico sintetasa, que en algunos modelos animales han logrado revertir la hipotensión inducida por sepsis. En un estudio controlado y randomizado en 12 pacientes con sepsis, la infusión intravenosa de N-monometil-L-Arginina (L-NMMA), produjo un incremento significativo de la presión arterial media, pulmonar y sistémica. En otro estudio de 15 pacientes con síndrome séptico, la presión arterial media se incrementó de 89 a 140 mmHg después de la administración de un inhibidor de la óxido nítrico sintetasa. Los inhibidores de la óxido nítrico sintetasa también revierten los efectos hipotensores inducidos por altas dosis de IL-2. El uso de ON inhalado en pacientes con ARDS severo, mejoró de forma significativa la oxigenación arterial, la presión arterial pulmonar y el número de shunt intrapulmonares. La ventaja del ON inhalado radica, en que debido a que se inactiva al unirse a la hemoglobina (por la que presenta gran afinidad), no produce vasodilatación sistémica. En estos momentos se están realizando estudios a gran escala para evaluar los inhibidores de la óxido nítrico sintetasa (NOS) y la eficacia del ON inhalado.

#### Modulación del complemento.

Las investigaciones iniciales han demostrado que la inhibición de los componentes del complemento, se asocia con inestabilidad vascular y reclutamiento de células inflamatorias. Por ejemplo, el uso del inhibidor de la esterasa C1, en un pequeño estudio clínico, produjo en 4 de 5 pacientes sépticos, aumento de los niveles de factor XII, disminución de la activación del complemento y mejoría de la función hemodinámica. El CR1 recombinante humano, inhibe la activación del complemento por ambas vías y ha demostrado efectos protectores contra el daño pulmonar inducido por neutrófilos en pulmones de animales de experimentación. Además, anticuerpos monoclonales de conejo, contra C5a humano, protege a los primates contra el daño pulmonar inducido por la exposición a E. coli. Hasta la fecha no se conoce de ningún estudio realizado en humanos, con ambos agentes.

## Modulación de la producción de fosfolípidos.

Uno de los fosfolípidos con mayores propiedades mediadoras en la respuesta inflamatoria, es el FNT. Números antagonistas del FNT y bloqueadores sintéticos de los receptores de FNT, han sido estudiados. En modelos animales de sepsis por gérmenes Gram negativos y Gram positivos, los antagonistas del FNT han demostrado, disminuir la hipotensión y disminuir la mortalidad. Los resultados han sido más alentadores cuando estos agentes se aplican en sepsis producidas por Gram negativos.

En modelos animales, los inhibidores de la cicloxigenasa, moderan la toxicidad de las endotoxinas, FNT-alfa e IL-1. En voluntarios, el ibuprofeno, previene la fiebre inducida por endotoxinas, pero no la inducida por la liberación de FNT-alfa. En un estudio piloto de 30 pacientes con SIRS o shock séptico, el tratamiento con ibuprofeno, mejoró la presión sanguínea, la frecuencia cardiaca, la temperatura, el volumen minuto y la presión pico en la vía aérea junto con mayor reversión de los signos de shock. Los antagonistas de los receptores del tromboxano  $A_2$ , inhiben la agregación plaquetaria en el plasma humano, mejoran la supervivencia de ratas sometidas a la acción de las endotoxinas y atenúan el aumento de la presión en las vías aéreas inducidos por E. coli en perros, de forma directamente proporcional a la dosis. En un estudio bien controlado, el agente antifúngico ketoconazol, inhibidor de la tromboxano sintetasa, reduce de forma significativa el desarrollo de ARDS y la mortalidad a los 30 días durante la sepsis. En modelos animales, los antagonistas de los leucotrienos, atenúan el daño pulmonar inducido por endotoxinas. No se conocen estudios con estos agentes en humanos.

## Lesiones para el futuro.

Como hemos descrito, “el primer round” de los ensayos clínicos ha sido poco alentador. Las preguntas acerca de la misteriosa bala mágica resultan más bien evasivas e ilustran las complejidades del SRIS. La cascada inmunoinflamatoria, es un complejo proceso autoperpetuante, que impone sus propias condiciones que pueden resultar en una rápida curación o en el deterioro hemodinámico, con daño de órganos terminales. La insuficiencia de los agentes inmunomoduladores para producir beneficios significativos desde el punto de vista estadístico en los humanos puede depender de:

1. Los modelos animales no necesariamente representan situaciones clínicas.

2. Los ensayos clínicos, frecuentemente comprenden poblaciones heterogéneas, en diferentes estadios de la cascada inmunoinflamatoria, que pueden no responder de forma uniforme a un tratamiento en particular. Esto quedó demostrado en los ensayos con endotoxinas, con subgrupos de análisis que sugieren ventajas en la supervivencia para los pacientes con sepsis a gram-negativos, pero no para la población total estudiada.
3. La inhibición, o la inactivación de un simple mediador inflamatorio, puede ocurrir muy tarde en el curso clínico de la sepsis y por tanto no altera el pronóstico. Por ejemplo, la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias por macrófagos, como FNT-alfa E IL-1, puede ocurrir en los primeros 30 a 60 minutos posteriores a la administración de las endotoxinas. Sus acciones proinflamatorias ocurren inmediatamente después y conducen a la cascada inflamatoria. muy rápido
4. Los niveles de citocinas circulantes, no siempre son mensurables en pacientes con síndrome séptico. Por ejemplo, sólo 54% de los pacientes con síndrome séptico, presenta niveles mensurables de FNT-alfa y sólo el 37% presenta niveles detectables de IL-1. Además, los antagonistas naturales de las citocinas como s FNT-R tipo I y II e IL—1ra se encuentran presentes en concentraciones de 30 a 100,000 veces superior que sus correspondientes citocinas en pacientes con síndrome séptico. Debido a estos altos niveles circulantes no resulta claro cuando la administración exógena de inhibidores como IL-1ra resulta de valor adicional y pueda explicar porque estudios clínicos recientes han fracasado en demostrar sus ventajas.

Otros muchos aspectos también deben considerarse cuando se diseñen futuras investigaciones, incluyendo el impacto a largo plazo de estos agentes sobre la morbilidad y la mortalidad. Además, la atenuación de la disfunción de órganos, puede influir sobre la morbilidad y la calidad de la vida a largo plazo mas que el pronostico de supervivencia. El costo del desarrollo y aplicación de futuros agentes inmunomoduladores resulta elevado y aumenta el ya caro tratamiento de los síndromes infecciosos. Por tanto cualquier comercialización exitosa de estos agentes necesita demostrar no sólo su eficacia, sino un aceptable costo/beneficio.

Debido a que el SRIS puede presentarse por una gran variedad de causas, se necesitan nuevos y mejores métodos diagnósticos antes de aplicar el tratamiento dirigido a mediadores inflamatorios específicos. La disponibilidad para el diagnóstico etiológico rápido y determinar el grado de inflamación sistémica, permitirá un enfoque terapéutico más directo y apropiado.

Finalmente, el tratamiento óptimo de la inflamación sistémica requiere más de un arsenal de agentes inmunomoduladores, que de una simple bala mágica. La facultad de modular la cascada inflamatoria en múltiples niveles, es un intento de atenuar los rápidos efectos de los mediadores proinflamatorios como las citokinas, mientras se reduce la actividad procoagulante, la activación celular, los cambios en los receptores celulares de superficie y la interacción célula-célula. Estudios recientes que se han centrado en los eventos moleculares requeridos para señalar (signal) la transducción y la activación celular, han proporcionado mayor conocimiento de los procesos intrínsecos de la modulación sistémica. Por ejemplo, los inhibidores de la tirosinquinasa, han demostrado ser más efectivos, en el bloqueo de la activación de macrófagos de ratones por LPS y la producción de FNT-alfa. Por tanto, puede asegurarse que a través de un mayor entendimiento de los eventos moleculares asociados con la activación celular, será posible el desarrollo de nuevas y más novedosas modalidades terapéuticas.