

Estrés oxidativo y nitrosativo en la sepsis

F.J. HURTADO BREDDA^a, N. NIN VAEZA^b Y H. RUBBO AMONINI^c

^aDepartamento de Fisiopatología y Laboratorio de Exploración Funcional de la Cátedra de Medicina Intensiva. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.

^bDepartamento de Fisiopatología de la Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.

^cDepartamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay.

La activación de leucocitos polimorfonucleares (PMN) característica del proceso inflamatorio que acompaña a la sepsis, cursa con un marcado incremento del estrés oxidativo. Las especies reactivas de oxígeno no neutralizadas por las defensas antioxidantes reaccionan con proteínas, ADN, ARN y lípidos de membranas celulares determinando bloqueos en pasos del metabolismo celular y disfunción mitocondrial, que conducen al fracaso energético celular.

Simultáneamente con el proceso inflamatorio, ocurre un aumento de la producción de óxido nítrico (NO). El NO producido en exceso reacciona con el anión superóxido, dando lugar a la formación de peroxinitrito (ONOO⁻), especie altamente reactiva capaz de nitrar residuos de tirosina, oxidar lípidos y enzimas críticas del metabolismo intermediario, y romper cadenas de ADN. La activación de la enzima nuclear reparadora del ADN, poli-ADP ribosil polimerasa (PARP), conduce a una depleción intracelular de NAD, con la consiguiente disminución de la producción de adenosina trifosfato (ATP). El ONOO⁻ también oxida y produce depleción de antioxidantes endógenos, como ascorbato, glutatión y superóxido dismutasa.

La presencia de ONOO⁻ y otras especies reactivas derivadas del nitrógeno, como el dióxido de nitrógeno, en conjunción con el aumento del estrés oxidativo, perpetúa el proceso inflamatorio por diferentes mecanismos (por ejemplo, quimiotaxis de PMN, y activación del factor nuclear kappa B (NF-κB)).

Los avances descritos proporcionan una nueva relevancia al estrés oxidativo y al estrés nitrosativo, en la comprensión de la patogénesis de la sepsis, y permiten entender las bases fisiopatológicas de la disfunción celular en la sepsis.

PALABRAS CLAVE: sepsis, oxidación, nitración, óxido nítrico, disfunción mitocondrial.

OXIDATIVE AND NITRIDATIVE STRESS IN SEPSIS

The typical activation of polymorphonuclear leukocytes (PMNs) in the inflammatory process secondary to sepsis evolves with a marked increase in oxidative stress. The reactive species of oxygen not neutralized by antioxidant defenses react with proteins, DNA, RNA, and lipids of cellular membranes giving rise to blocking various steps of cellular metabolism and to mitochondrial dysfunction, all of which lead to cellular energy failure.

An increment of nitric oxide (NO) production occurs at the same time that inflammatory process. NO produced in excess reacts with superoxide anion giving rise to the formation of peroxynitrite (ONOO⁻), a highly reactive species with capacity for nitridation of tyrosine residues, for oxidation of lipids and critical enzymes of the intermediary metabolism, and for breaking DNA chains. The activation of DNA reparative nuclear enzyme, poly-ADP ribosyl polymerase (PARP), leads to an intracellular depletion of NAD, with the resulting reduction of ATP production. ONOO⁻ also oxidizes and give rise to a depletion of endogenous antioxidants, as ascorbate, glutation, and superoxide dismutase.

The presence of ONOO⁻ and other reactive species from nitrogen (as nitrogen dioxide) in conjunction with the increase of oxidative stress,

Correspondencia: Dr. F.J. Hurtado.
Hospital de Clínicas, CTI.
Avda. Italia, s/n. Piso 14. Montevideo. 11600. Uruguay.
Correo electrónico: jhurtado@hc.edu.uy

perpetuates the inflammatory process through various mechanisms (e.g., PMNs chemotaxis, and activation of nuclear factor Kappa B (NF- κ B)).

The progress described contributes a new importance to oxidative stress and to nitridative stress in the knowledge of the pathogenesis of sepsis, and makes it possible to understand the physiopathological bases of cellular dysfunction in sepsis.

KEY WORDS: *sepsis, oxydation, nitridation, nitric oxide, mitochondrial dysfunction.*

INTRODUCCIÓN

La sepsis continúa siendo una de las principales causas de muerte en los pacientes críticos y su incidencia ha mostrado un lento pero sostenido crecimiento en los últimos años. De manera frecuente se asocia con fracaso orgánico múltiple que puede ser grave y progresivo determinando, en un alto porcentaje de casos, el fallecimiento del paciente¹⁻³. El aumento de la incidencia del shock séptico puede atribuirse a varios factores: mayor número de pacientes inmunodeprimidos, aumento de procedimientos diagnósticos invasivos, prolongación de la expectativa de vida y mayor resistencia de los microorganismos a los antibióticos. Adicionalmente, algunos pacientes contraen esta entidad dentro de las Unidades de Cuidados Intensivos, como complicación asociada a diferentes medidas y procedimientos invasivos⁴.

Los mecanismos involucrados en el desarrollo del daño orgánico son multifactoriales y todavía no bien conocidos. En algunas circunstancias, la disfunción orgánica es atribuible a la hipoxia tisular como consecuencia del deterioro hemodinámico y disminución de la perfusión o isquemia tisular. Sin embargo, el papel de la hipoxia tisular ha sido cuestionado como mecanismo exclusivo del fallo orgánico en la sepsis⁵. Así, en ausencia de compromiso hemodinámico demostrable, como puede ocurrir en los estados hiperdinámicos del shock séptico, resulta cuestionable atribuir el fallo orgánico a hipoxia tisular. Sin embargo, aún es posible que puedan ocurrir trastornos de la distribución del flujo sanguíneo y alteraciones graves en la microcirculación que comprometan la perfusión tisular efectiva^{6,7}.

Por otra parte, hay evidencia de otros posibles mecanismos patogénicos. La activación de leucocitos polimorfonucleares, característica del proceso inflamatorio que acompaña a la sepsis, cursa con un marcado incremento del estrés oxidativo, entendiendo por tal el desbalance entre la formación de especies reactivas del oxígeno (ERO) y las defensas antioxidantes, en favor de las primeras⁸. Las ERO no neutralizadas por las defensas antioxidantes reaccionan con proteínas, ADN, ARN y lípidos de membranas celulares determinando bloqueos en pasos del metabolismo celular y disfunción mitocondrial, que conducen al fracaso energético celular⁹.

Simultáneamente con el proceso inflamatorio ocurre aumento de la producción de óxido nítrico (NO) por inducción de la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). La superproducción de NO determina su reacción, mediada por difusión, con el anión superóxido dando peroxinitrito (ONOO⁻), especie altamente reactiva capaz de oxidar y nitrar componentes celulares y tisulares, tales como los residuos de tirosina de las proteínas celulares y plasmáticas, el ADN y lípidos o enzimas críticas del metabolismo intermediario¹⁰. Así, está bien documentado el daño estructural y funcional a nivel mitocondrial, que se torna irreversible debido a oxidación y nitración de componentes mitocondriales. El ONOO⁻ también oxida y produce depleción de antioxidantes endógenos tales como ascorbato, glutatión y superóxido dismutasa¹⁰. La presencia de ONOO⁻ y otras especies reactivas derivadas del nitrógeno (ERN) tales como el dióxido de nitrógeno (NO₂), cuyo papel en la sepsis es objeto de investigación reciente, nos lleva a ampliar el concepto clásico de estrés oxidativo al de estrés nitrosativo. En esta situación, predomina la formación de estas ERN sobre los mecanismos detoxificadores intracelulares y plasmáticos, llevando al consiguiente daño celular y tisular. El estrés oxidativo y nitrosativo actúan perpetuando el proceso inflamatorio por diferentes mecanismos. Las ERO y ERN tienen efectos quimiotácticos, favoreciendo el reclutamiento de neutrófilos. Además, las moléculas mediadoras de estrés oxidativo se constituyen también en mensajeros intracelulares para la transducción de señales del proceso inflamatorio. Así por ejemplo, el factor nuclear kappa B (NF κ B) activado por estos mensajeros secundarios migra al núcleo donde selectivamente estimula la transcripción de proteínas específicas de la inflamación. Éste induce la transcripción de genes que promueven la producción de citocinas como la interleucina-6 (IL-6), la interleucina-8 (IL-8) y moléculas de adhesión (ICAM-1) que agudizarán o perpetuarán el proceso inflamatorio¹¹.

En la búsqueda de nuevas medidas terapéuticas para el manejo de la sepsis grave y del shock séptico se han producido algunos avances. La administración oportuna de soporte nutricional, la prevención de las infecciones nosocomiales, la prevención de úlceras de estrés, la profilaxis de la trombosis venosa profunda, el uso adecuado de sedación-analgésia y el uso de patrones de ventilación mecánica protectora, han desempeñado un papel importante y podrían ser beneficiosos en algunos subgrupos de pacientes⁴. Tratamientos farmacológicos más específicos, que intentaron modular o bloquear algunos componentes del proceso inflamatorio, no alcanzaron el éxito esperado o fracasaron decididamente. Sin embargo, los conocimientos sobre la bioquímica de la sepsis han aumentado de manera sustancial en los últimos años, abriendo expectativas al ensayo de nuevas terapias alternativas. Siendo el estrés oxidativo y nitrosativo un capítulo fundamental en la patogenia de la sepsis, la terapia moduladora de la síntesis de NO, el empleo de antioxidantes y/o de atrapadores de ERO y

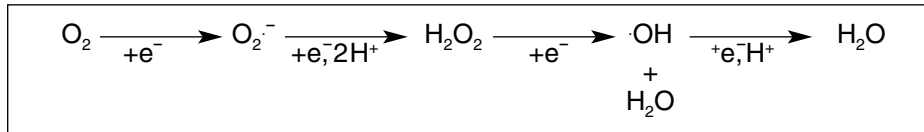


Figura 1. Reacciones de formación de especies reactivas del oxígeno (ERO).

ERN, han mostrado beneficios prometedores en modelos experimentales. No es aventurado pensar entonces que un enfoque de este tipo resulte finalmente en una terapia exitosa para disminuir la mortalidad de pacientes con shock séptico.

ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXÍGENO Y DEL NITRÓGENO

El oxígeno es esencial para la vida de los organismos aerobios, y su mayor parte (98% o más) es utilizado para la generación intracelular de energía, proceso en el cual resulta reducido completamente a agua, involucrando la transferencia de 4 electrones a nivel de la cadena respiratoria mitocondrial (fig. 1). Sin embargo, entre los nutrientes iniciales y la generación de energía, se forman varias moléculas por reducción parcial del oxígeno, tales como el radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La reacción entre estas dos especies en presencia de metales (hierro intracelular), lleva a la formación de otro radical, el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), uno de los oxidantes más potentes que existen.

Debido a su corta vida media, baja selectividad y elevada reactividad, los blancos biológicos de las ERO incluyen diversos componentes tanto intra como extracelulares tales como proteínas, enzimas, ácidos nucleicos, membranas y lipoproteínas.

Fuentes intracelulares

Las fuentes intracelulares de ERO incluyen los complejos I y II de la cadena mitocondrial de transporte electrónico, peroxisomas, sistemas enzimáticos de mono y dioxigenasas y los leucocitos polimorfonucleares. En los últimos años se ha demostrado que ante diferentes estímulos fisiopatológicos, las células vasculares producen especies reactivas del oxígeno y que la principal fuente de radicales libres en estas células es una oxidasa vascular que utiliza NADH y NADPH como sustratos reductores para la transferencia monoeléctrica al oxígeno molecular y producción concomitante de $\text{O}_2^{\cdot-}$. Esta oxidasa vascular es, en muchos aspectos, similar a la NADPH oxidasa de los neutrófilos, aunque difiere en sus mecanismos de activación. Un aspecto particularmente importante de la NADH/NADPH oxidasa vascular es que su actividad es estimulada por angiotensina II (a través del receptor AT1), citocinas (por ejemplo factor de necrosis tumoral alfa [TNF- α]) y lipoproteínas oxidadas. A través de la estimulación de dicha oxidasa vascular, la angiotensina II se constituye en una causa principal de estrés oxidativo vascular, con

la consiguiente generación de disfunción endotelial, vinculado estrechamente a las etapas iniciales del proceso séptico.

Defensas antioxidantes

Los organismos aerobios están expuestos a un estado estacionario basal de oxidantes y las células se hallan protegidas contra esta producción basal por una serie de sistemas antioxidantes de naturaleza enzimática (superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa) y no enzimática. La mayoría de los antioxidantes enzimáticos se basan en principios de reacciones *redox* y están localizados en medios acuosos (vitamina C, glutatión) o lipídicos (vitamina E, ubiquinol, carotenoides y flavonoides). El α -tocoferol, componente principal de la vitamina E, constituye el principal antioxidante liposoluble capaz de interrumpir la oxidación de lípidos insaturados a nivel de membranas biológicas y lipoproteínas, preservando su integridad estructural y funcional. Cuando un radical lipídico del tipo alcoxilo (LO) o peroxilo (LOO) generado por procesos de lipoperoxidación reacciona con α -tocoferol, es reducido a hidroperóxido lipídico (LOOH), incapaz de seguir reacciones de propagación de la lipoperoxidación (fig. 2). De esta forma el α -tocoferol al donar un electrón y oxidarse como consecuencia de neutralizar radicales lipídicos, se transforma en radical tocoferoxilo, que puede ser reconvertido a su estado nativo tocoferol por otros antioxidantes. La vitamina C o ácido ascórbico (ascorbato) es el reductor más importante de α -tocoferol, con el coste de la formación de un radical de la vitamina C (ascorbilo) que, a su vez, puede ser reducido nuevamente a ascorbato por otros reductores como glutatión y tioles. La acción combinada de las vitaminas E y C resulta en un sinergismo antioxidante debido a su localización en distintos compartimientos (fase liposoluble e hidrosoluble, respectivamente). Debido a sus propiedades reductoras, el ascorbato neutraliza distintas ERO y ERN. En el curso de estas reacciones, el ascorbato se oxida a dihidroascorbato, siendo capaz de ser reciclado nuevamente a ascorbato por reductores tales como el glutatión. Por último, tenemos oligoelementos que pertenecen al grupo de defensas antioxidantes no enzimáticas, participando como cofactores esenciales para la acción de enzimas antioxidantes: el selenio es cofactor de la enzima detoxificadora de peróxido de hidrógeno glutatión peroxidasa, y el zinc es cofactor de la superóxido dismutasa citosólica (Cu-Zn SOD), responsable de la eliminación de radicales superóxido.

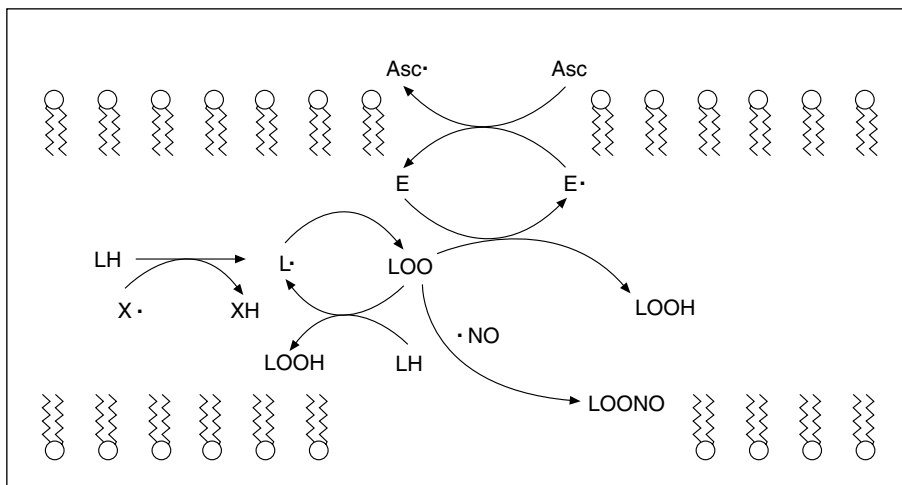


Figura 2. Mecanismo de lipoperoxidación y acción antioxidante de las vitaminas C, E y del óxido nítrico.

Oxido nítrico

Por otra parte, estudios de nuestro laboratorio^{12,13} han permitido postular al NO como principal antioxidante lipofílico endógeno, mediante su capacidad de difundir a medios hidrofóbicos y terminar reacciones de propagación de la lipoperoxidación, actuando con el α -tocoferol para la eliminación de los radicales lipídicos, preservando a la vitamina E del daño oxidativo (fig. 3). El NO constituye el principal componente químico del factor de relajación dependiente del endotelio (EDRF) que produce la rela-

jación del músculo liso, siendo sintetizado en forma constitutiva por la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) a partir del aminoácido L-arginina, existiendo además la forma constitutiva neuronal (nNOS) y la forma inducible (iNOS). Desde el punto de vista cardiovascular el efecto vasodilatador es la función más importante del NO, pero también se sabe que como mensajero es una molécula de múltiples funciones reguladoras en diferentes sistemas. Por su estructura, el NO es un radical libre centrado en nitrógeno y como tal puede participar en reacciones con otras especies reactivas del oxígeno (fig. 3).

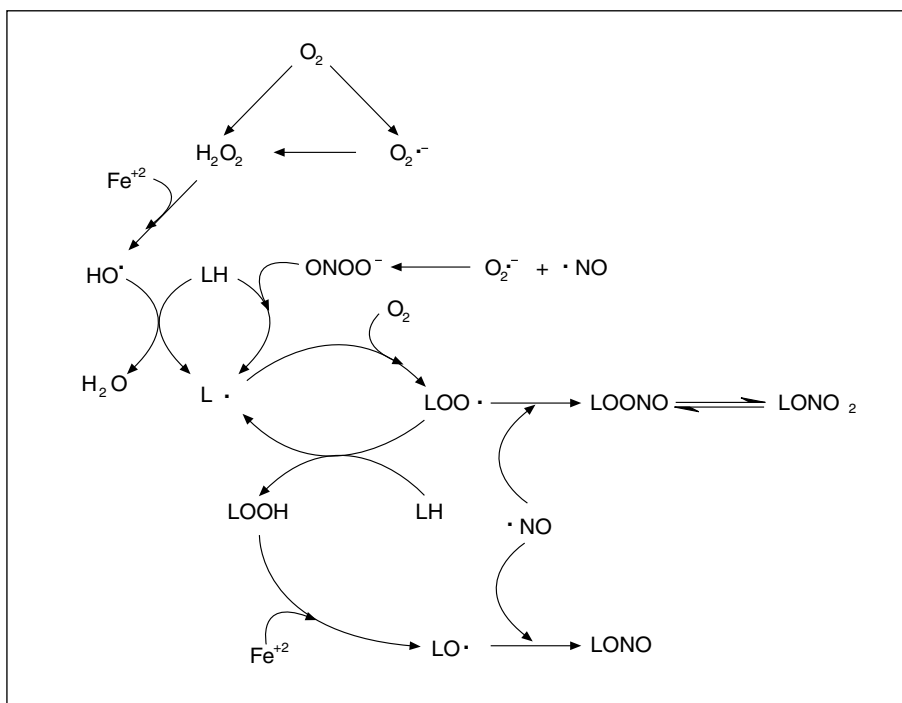


Figura 3. Reacciones pro y antioxidantes del óxido nítrico en membranas.

De particular importancia para la biología vascular es la reacción limitada por difusión entre el O_2^- y el NO ($K_M 10^{10} M^{-1}s^{-1}$)¹⁰. Esta reacción produce un agente fuertemente oxidante y nitrante, el peroxinitrito (ONOO⁻). La reacción radical-radical entre el O_2^- y el NO es más rápida que la reacción entre el O_2^- y la superóxido dismutasa ($k = 1,9 \times 10^9 M^{-1}s^{-1}$). El interjuego entre la producción de O_2^- , su eliminación por la superóxido dismutasa y su reacción con el NO, posee un papel central en la modulación de la actividad biológica del NO. El ONOO⁻ en su forma aniónica es capaz de protonarse a pH fisiológico para dar ácido peroxinitroso (ONOOH) que rinde OH y NO₂, o se descompone a nitrato (NO₃⁻)¹⁰. Es así que el ONOOH inicia procesos de lipoperoxidación al abstraer un electrón de un ácido graso insaturado (LH)¹². El producto de la reacción es un radical lipídico (L), que a su vez en presencia de oxígeno molecular es capaz de generar reacciones de propagación en cadena, formando radicales peroxilo de ácidos grasos (LOO). En estas situaciones el NO está desempeñando un papel prooxidante debido a que el ONOO⁻ generado es un agente fuertemente oxidante y nitrante a nivel de proteínas y lípidos de membrana e intracelulares^{10,12}. La faz antioxidante del NO ocurre cuando interviene en reacciones radical-radical de terminación de los procesos de lipoperoxidación limitadas por difusión (LOO + NO, $K_M 10^9 M^{-1}s^{-1}$), dando productos nitrogenados no radicales^{10,12,14}. El comportamiento del NO como pro o antioxidante depende de la concentración de O_2^- que, cuando es elevada, aumenta las reacciones oxidativas. La corta vida media del NO y el delicado balance existente entre su síntesis, utilización por blancos biológicos normales o por el contrario, por reacciones que median su descomposición, inactivación o transformación secundaria en ERN, determina que haya situaciones en las que su disponibilidad esté disminuida, favoreciendo y generando procesos de daño tisular. Estas situaciones pueden determinar una síntesis disminuida y/o un consumo aumentado. La síntesis de NO puede estar disminuida por una alteración en la concentración de sustratos para la NOS en la célula endotelial, presencia de inhibidores endógenos de esta enzima (ADMA), así como por alteración de la expresión de la enzima, que si bien es constitutiva, está sujeta a regulación por diferentes mecanismos. La generación aumentada de ERO desvía al NO de su metabolismo normal y no sólo altera su disponibilidad, sino que lleva a la producción de ERN tales como el ONOO⁻.

HIPOXIA CITOPÁTICA Y DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL

Varios investigadores han señalado la existencia de trastornos del metabolismo energético celular en la sepsis. El mismo estaría en la base de la disfunción y muerte celular y, por tanto, sería responsable también de la disfunción orgánica múltiple. El término hipoxia citopática ha sido acuñado para referirse a esta situación donde el daño o el bloqueo de

pasos metabólicos intracelulares desempeña un papel fundamental⁹.

La disminución o bloqueo de la respiración mitocondrial por inactivación de distintos complejos de la cadena respiratoria o la depleción de depósitos celulares de NAD⁺/NADH por activación de la enzima nuclear Poly-ADP-ribosa polimerasa son mecanismos posibles de la falla energética celular¹⁵.

Hemos mencionado el hecho de que las mitocondrias son el blanco preferido de la hiperproducción de ERO y ERN. El daño en la respiración mitocondrial ha sido demostrado en diversos modelos experimentales y también en seres humanos. Esta agresión mitocondrial tiene manifestaciones funcionales y estructurales evidentes, habiéndose encontrado una buena correlación anatomofuncional^{16,18}.

En seres humanos, Brealey et al mostraron la asociación entre disfunción mitocondrial e intensidad del shock séptico¹⁷. Estos autores estudiaron biopsias de músculo esquelético en un grupo de pacientes sépticos, midiendo la respiración mitocondrial en las muestras recogidas. Los resultados se compararon contra biopsias de una población de sujetos no sépticos, encontrándose disminución de la actividad de la cadena respiratoria, descenso de concentraciones intracelulares de adenosina trifosfato (ATP), descenso de glutatión intracelular y aumento de concentración de nitritos/nitratos (productos finales de la descomposición del NO en los sujetos sépticos). Hubo asociación entre sobreproducción de NO, depleción de antioxidantes, disfunción mitocondrial y descenso de concentraciones de ATP, con el nivel de gravedad del fallo orgánico y con la mortalidad de los casos. Boulos et al también mostraron depresión de la respiración mitocondrial cuando estos organelos eran expuestos a suero de pacientes sépticos. Ello podía ser atenuado por inhibición de la iNOS y de la sintetasa Poly-ADP-ribosa¹⁸.

En un modelo experimental de sepsis peritoneal hemos demostrado depresión de la respiración mitocondrial en diafragma, que se asocia a disminución de antioxidantes en plasma y aumento en la producción de NO, lipoperoxidación y nitración de proteínas plasmáticas y mitocondriales¹⁹. Esta disfunción mitocondrial se asocia con un descenso de las fuerzas diafragmáticas estudiadas *in vitro*¹⁹, enfatizando que la hiperproducción de NO y el consiguiente incremento de actividad de ERN desempeñan un papel protagonista en la génesis de la disfunción multiorgánica.

Las mitocondrias constituyen un blanco intracelular para la acción del NO, dada la fácil difusión de éste a través de las biomembranas. El NO puede alcanzar las mitocondrias difundiendo de fuentes extramitocondriales de la misma célula o desde células adyacentes. Puede actuar de forma autocrina o paracrina e interactuar con los componentes mitocondriales. Niveles fisiológicos de NO (10-100 nM) pueden producir una completa inhibición de la respiración mitocondrial a concentraciones normales de O_2 tisular¹⁶. Una de las causas de este fenómeno es la interacción del NO con la citocromo oxidasa,

reduciendo los componentes de la cadena de transporte de electrones. A su vez, el NO inhibe los complejos I y II¹⁶. En el caso del complejo I, el NO por sí mismo es capaz de inhibir este complejo en la mitocondria aislada. La inhibición mediada por el NO requiere la formación transitoria de nitrosotioles y ONOO⁻, que pueden nitrar u oxidar grupos tioles del complejo I. En el caso del complejo II, el NO puede unirse en los *cluster* hierro-sulfuros, pero sólo son observados efectos significativos ante grandes concentraciones de NO¹⁶. A su vez el NO puede reaccionar con el ubiquinol para generar NO[•] y radical ubisemiquinona²⁰. Esta reacción favorece la producción de ONOO⁻, por lo que contribuiría al daño oxidativo mitocondrial. Todos estos mecanismos de daño mitocondrial se podrían desencadenar y/o sobreproducir en la sepsis, determinando la disminución de la actividad de los complejos de la cadena respiratoria, con el consiguiente bloqueo en la producción de ATP.

TERAPIA ANTIOXIDANTE EN LA SEPSIS

El estrés oxidativo y nitrosativo y su consecuencia, la hipoxia citopática, podría explicar el fracaso de distintas estrategias empleadas en el manejo clínico del shock séptico. Así, puede explicarse que los esfuerzos dirigidos a mejorar la oxigenación tisular por aumento del aporte sistémico de oxígeno o la optimización de la función cardiovascular resulten infructuosos cuando la maquinaria mitocondrial está bloqueada.

La terapia antioxidante en el tratamiento de la sepsis o de otras entidades del enfermo crítico como el daño por isquemia-reperusión tiene todavía importantes desafíos por delante. En primer lugar, es posible actuar a diferentes niveles como puede ser la síntesis de NO y la producción de ERO o ERN, o tratando de amortiguar los efectos celulares o tisulares de esta sobreproducción. Hay evidencia experimental de que los tratamientos antioxidantes pueden generar beneficio en la sepsis, mejorando la respiración mitocondrial y la disfunción orgánica²¹.

Las estrategias antioxidantes pueden ser variadas. Se ha ensayado aumentar el aporte exógeno de vitaminas como el α -tocoferol, el β -caroteno o el ácido ascórbico^{21,22}. Otros compuestos con acción antioxidante como la N-acetilcisteína han mostrado resultados alentadores¹¹. Oligoelementos tales como el selenio, cobre, zinc y manganeso también han sido investigados, pero no hay resultados definitivos sobre posibles beneficios en pacientes críticos.

Recientemente se ha propuesto el uso de una nueva generación de compuestos antioxidantes con acción superóxido dismutasa similar, las metaloporfirinas, que actúan catalíticamente como atrapadores de O₂^{•-}, ONOO⁻, NO₂[•], LOO[•] y otras especies reactivas²³. Se ha demostrado su acción antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo*^{10,24}. En nuestro modelo experimental, hemos podido demostrar mejoría tanto de la disfunción muscular diafragmática como de la respiración mitocondrial con el empleo profiláctico de Mn(III)

porfirinas¹⁹. Con un enfoque conceptual similar, se han empleado estas sustancias en la disfunción renal de la sepsis con resultados alentadores sobre la preservación del flujo sanguíneo y de la función renal²⁵.

Si bien estos datos deben ser confirmados en series mayores, se abren grandes expectativas en el tratamiento de la disfunción orgánica de la sepsis a través de la modulación de la hiperproducción o la amortiguación de los efectos de las ERO y ERN²⁶. Quedan preguntas por resolver sobre cuál es el mejor fármaco o la mejor combinación de fármacos a usar (por ejemplo metaloporfirinas + inhibidores de la iNOS), dosis más adecuada, vías de administración y, sobre todo, oportunidad del tratamiento. En este sentido, el tratamiento profiláctico, previo al desarrollo de la lesión oxidativa parecería ser la mejor estrategia. Se requiere mayor investigación sobre todos estos puntos con la certeza de que en el futuro se podrá disponer de agentes farmacológicos que ayuden a prevenir la disfunción multiorgánica (DMO) mediante el control del estrés oxidativo y nitrativo.

AGRADECIMIENTOS

Homero Rubbo es financiado por *grants* de *Fogarty-NIH*, *Wellcome Trust (UK)* y *Guggenheim Memorial Foundation*, así como Comisión Sectorial de investigación Científica de la Universidad de la República, Fundación Manuel Pérez-Facultad de Medicina y Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas, Uruguay.

BIBLIOGRAFÍA

1. Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, Brenner M, Kovacs JA, Wesley RA, et al. The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med*. 1989;321:280-7.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Garcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001;29:1303-10.
3. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003;31:1250-6.
4. Wheeler A, Beamrd G. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med*. 1999;340:207-14.
5. Hurtado FJ, Gutiérrez AM, Silva N, Fernández E, Khan AE, Gutiérrez G. Role of tissue hypoxia as the mechanism of lactic acidosis during *E. coli* endotoxemia. *J Appl Physiol*. 1992;72:1895-901.
6. Vallet B. Endothelial cell dysfunction and abnormal tissue perfusion. *Crit Care Med*. 2002; 30:S229-34.
7. Drazenovic R, Samsel RW, Wylam ME, Doerschuk CM, Schumacker P. Regulation of perfused capillary density in canine mucosa during endotoxemia. *J Appl Physiol*. 1992;72:259-65.
8. Goode HF, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Wester NR. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with sepsis and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med*. 1995;23:646-51.
9. Fink MP. Cytopathic hypoxia. Mitochondria dysfunction as mechanism contributing to organ dysfunction in sepsis. *Crit Care Clin*. 2001;17:219-37.
10. Radi R, Denicola A, Ferrer G, Álvarez B, Rubbo H. The biological chemistry of peroxynitrite. En: Ignarro L, editor. *Nitric Oxide Biology and Pathobiology*. San Diego: Academic Press; 2000. p. 57-82.

11. Paterson R, Galley H, Webster N. The effect of N-acetyl-cysteine on nuclear factor- κ B activation, interleukin-6, interleukin-8, and intercellular adhesion molecule-1 expression in patients with sepsis. *Crit Care Med.* 2003;31:2574-8.
12. Botti H, Batthyány C, Trostchansky A, Radi R, Freeman B, Rubbo H. Peroxynitrite-mediated α -tocopherol oxidation in low-density lipoprotein: a mechanistic approach. *Free Rad Biol Med.* 2004;36:152-62.
13. Denicola A, Batthyány C, Lissi E, Freeman BA, Rubbo H, Radi R. Diffusion of nitric oxide into low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 2002;277:932-6.
14. Rubbo H, Radi R, Trujillo M, Telleri R, Kalyanaraman B, Barnes S, et al. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation: formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J Biol Chem.* 1994;269:26066-75.
15. Liaudet L, Oddo M. Role of poly (adenosine diphosphate-ribose) polymerase I in septic peritonitis. *Curr Opin Crit Care.* 2003;9:152-8.
16. Radi R, Cassina A, Hodara R. Nitric oxide and peroxynitrite interactions with mitochondria. *Biol Chem.* 2002;383:401-9.
17. Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Heales S, Land J, Smolenski R, et al. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet.* 2002;360:219-23.
18. Boulos M, Astiz ME, Barua RS, Osman M. Impaired mitochondrial function induced by serum from septic shock patients is attenuated by inhibition of nitric oxide synthase and poly (ADP-ribose) synthase. *Crit Care Med.* 2003;31:353-8.
19. Nin N, Cassina A, Boggia J, Alfonso E, Botti H, Peluffo G, et al. Septic diaphragmatic dysfunction is prevented by Mn (III) porphyrin therapy and iNOS inhibition. *Intensive Care Med.* 2004;30:2271-8.
20. Poderoso J, Carreras M, Schopfer F, Lisdero C, Riobo N, Giulvi C, et al. The reaction of nitric oxide with ubiquinol: kinetic properties and biological significances. *Free Rad Biol Med.* 1999;26:925-35.
21. Lovat R, Preiser JC. Antioxidant therapy in intensive care. *Curr Opin Crit Care.* 2003;9:266-70.
22. Nathens AB, Neff MJ, Jurkovich GJ, Klotz P, Farver K, Ruzinski JT, et al. Randomized, prospective trial of antioxidant supplementation in critically ill surgical patients. *Ann Surg.* 2002;236:814-22.
23. Trostchansky A, Batthyány C, Botti H, Ferrer-Sueta G, Batinic-Haberle I, Radi R, et al. Peroxynitrite flux-mediated LDL oxidation is inhibited by manganese porphyrins in the presence of uric acid. *Free Rad Biol Med.* 2003;35:1293-300.
24. Salvemini D, Cuzzocrea S. Therapeutic potential of superoxide dismutase mimetics as therapeutic agents in critical care medicine. *Crit Care Med.* 2003;31:S29-38.
25. Wang W, Jittikanont S, Falk SA, Li P, Feng L, Gengaro PE, et al. Interaction among nitric oxide, reactive oxygen species, and antioxidants during endotoxemia-related acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003;284:F532-7.
26. Pinsky M. Antioxidant therapy for severe sepsis: Promise and perspective. *Crit Care Med.* 2003;31:2697-8.