

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

“Relación de la hiperglucemia con la producción de especies reactivas de oxígeno en pacientes críticamente enfermos y su influencia en la evolución clínica”

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

PRESENTA:

M.C. ENRIQUE OSWALDO JIMÉNEZ IBAÑEZ

DIRECTORES DE TESIS:

**DR. ALDO ARTURO RESÉNDIZ ALBOR
DR. HIPÓLITO NOÉ ALVARADO VÁSQUEZ**



MÉXICO, D. F.

DICIEMBRE 2011.



SIP-14-BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 14:00 horas del día 29 del mes de Noviembre del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de la E.S.M para examinar la tesis titulada:

“Relación de la hiperglucemia con la producción de especies reactivas de oxígeno en pacientes críticamente enfermos y su influencia en la evolución clínica”

Presentada por el alumno:

Jiménez **Ibañez** **Enrique Oswaldo**
Apellido paterno Apellido materno Nombre(s)

Con registro:

A	1	0	0	6	4	2
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dr. Aldo Arturo Reséndiz Albor

Dr. Hipólito Noé Alvarado Vásquez

Dr. Rafael Campos Rodríguez

Dr. Saúl Rojas Hernández

Dra. Martha Cecilia Rosales Hernández

Dr. Cuauhtémoc Salinas Lara

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Eleazar Lara Padilla
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
I.P.N.
SECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION
A CONTR...



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 29 del mes noviembre del año 2011, el que suscribe Jiménez Ibañez Enrique Oswaldo alumno del Programa de Maestría en Ciencias de la Salud con número de registro A100642 adscrito a La Escuela Superior De Medicina, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dr. Aldo Arturo Reséndiz Albor, Dr. Hipólito Noé Alvarado Vásquez y cede los derechos del trabajo intitulado “Relación de la hiperglucemia con la producción de especies reactivas de oxígeno en pacientes críticamente enfermos y su influencia en la evolución clínica”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección enos_89@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Enrique Oswaldo Jiménez Ibañez

Nombre y firma

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción.....	Página 1
1.1 Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.....	Página 1
1.2 Antecedentes Generales.....	Página 2
1.3 Hiperglucemia Inducida por Estrés.....	Página 2
1.4 Hiperglucemia y Función Inmunológica.....	Página 3
1.5 Hiperglucemia y Leucocitos.....	Página 3
2. Antecedentes Directos.....	Página 4
2.1 Especies Reactivas de Oxígeno.....	Página 6
3. Planteamiento del Problema.....	Página 7
4. Justificación.....	Página 8
5. Hipótesis.....	Página 9
6. Objetivos.....	Página 9
6.1 Objetivo General.....	Página 9
6.2 Objetivos Específicos.....	Página 9
7. Material y Métodos.....	Página 9
7.1 Población de estudio.....	Página 10
7.2 Selección y Reclutamiento de Pacientes.....	Página 10
7.3 Criterios de Inclusión.....	Página 10
7.4 Criterios de Exclusión.....	Página 11
7.5 Criterios de Eliminación.....	Página 11
7.6 Toma de Muestra.....	Página 11
7.7 Procesamiento de la muestra.....	Página 12
7.8 Determinación de Especies Reactivas de Oxígeno.....	Página 12
7.9 Tamaño de la muestra	Página 12
8. Resultados.....	Página 13
9. Discusión	Página 22
10. Conclusiones.....	Página 26
11. Perspectivas.....	Página 27
12. Referencias.....	Página 28

ABREVIATURAS

DAF: 4-amino-5-metilamino-2'.7'-difluoresceína.

DCFH-DA: -Diacetato de 2', 7'-diclorofluoresceína.

DiOC₆: yodato de 3,3'-dihexiloxacarbocianina.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

GCP: Buenas Prácticas Clínicas por sus siglas en inglés: *Good Clinical Practices*

IL-1: Interleucina 1.

IL-6: Interleucina 6.

IL-8: Interleucina 8.

IMC: Índice de Masa Corporal.

INER: Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

NAC: Neumonía Adquirida en la Comunidad

ON: Óxido Nítrico.

PMM: Potencial de Membrana Mitocondrial.

PMN: Polimorfonucleares, células.

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno por sus siglas en inglés: *Reactive Oxygen Species*.

SRIS: Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica.

TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral alfa por sus siglas en inglés: *Tumour Necrosis factor*.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Características Generales de los Pacientes Admitidos a la UCI.	Página 13
-----------------	--	------------------

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Los resultados se ordenaron por grupos: 21 sobrevivientes y 9 fallecidos. En la UCI se realizan pruebas de glucosa central a diario y en la figura se observa la tendencia de las concentraciones de glucosa a lo largo del tiempo de estancia en ambos grupos, siendo estadísticamente significativa. **Página 15**
- Figura 2** En esta figura observamos los niveles de hemoglobina de los 21 sobrevivientes y los 9 fallecidos durante su estancia en la UCI. La diferencia entre ambos no fue estadísticamente significativa. **Página 16**
- Figura 3** Datos de los números de plaquetas que mantuvieron los 21 pacientes sobrevivientes y los 9 fallecidos a lo largo de su estancia en la UCI. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas. **Página 16**
- Figura 4** Comparación de los números totales de leucocitos de los 21 pacientes sobrevivientes con los 9 fallecidos durante su estancia en la UCI. Existe una diferencia significativa entre ambos grupos, resultando más elevada en el grupo de fallecidos. **Página 17**
- Figura 5** Comparación de los porcentajes de neutrófilos entre los 21 pacientes sobrevivientes con los 9 fallecidos durante su estancia en la UCI. Las diferencias resultaron estadísticamente significativas, siendo más elevados en el grupo de pacientes fallecidos. **Página 18**
- Figura 6** Comparación de los porcentajes de linfocitos entre los 21 pacientes sobrevivientes con los 9 fallecidos durante su estancia en la UCI. Las diferencias resultaron estadísticamente significativas, siendo más elevados en el grupo de pacientes sobrevivientes. **Página 18**
- Figura 7** Fluorescencia de ROS en leucocitos de pacientes sobrevivientes a las 24 horas de su ingreso a la UCI. **Página 19**
- Figura 8** Fluorescencia de ROS en leucocitos de **Página 19**

pacientes sobrevivientes a las 48 horas de su ingreso a la UCI.

Figura 9 Fluorescencia de ROS en leucocitos de **Página 20**
pacientes sobrevivientes a las 72 horas de su ingreso a la UCI.

Figura 10 Fluorescencia de ROS en leucocitos de **Página 20**
pacientes fallecidos a las 24 horas de su ingreso a la UCI.

Figura 11 Fluorescencia de ROS en leucocitos de **Página 21**
pacientes fallecidos a las 48 horas de su ingreso a la UCI.

Figura 12 Fluorescencia de ROS en leucocitos de **Página 21**
pacientes fallecidos a las 72 horas de su ingreso a la UCI.

RESUMEN

Una característica común observada en los pacientes admitidos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), es la presencia de hiperglucemia en ausencia de historia previa de diabetes. Esta elevación en la concentración de glucosa se conoce como hiperglucemia por estrés, y se le considera como un factor negativo para la evolución de los pacientes en la UCI. Por lo anterior, realizamos un estudio de prospectivo y longitudinal, en el que se reclutaron pacientes hospitalizados en la UCI del INER a causa de neumonía. Se les extrajeron 3 muestras sanguíneas, a las 24, 48 y 72 horas desde su ingreso. Las muestras se procesaron por citometría de flujo para conocer la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS); los pacientes fueron seguidos por medio de sus datos clínicos. Nuestros resultados mostraron que el 87% de los pacientes que ingresaron a la UCI tuvieron como diagnóstico de ingreso neumonía adquirida en la comunidad (NAC). Posterior a su ingreso todos los pacientes evolucionaron hacia sepsis, así como presentaron hiperglucemia. Las concentraciones más elevadas de glucosa se observaron en los pacientes que fallecieron (147mg/dl), en comparación con los pacientes que sobrevivieron (129 mg/dl) ($p < 0.001$). Adicionalmente, se encontró que el porcentaje total de linfocitos fue menor en el grupo de pacientes que falleció (5.7 vs 11.8%, $p < 0.001$). Asimismo, se encontró que existen diferencias significativas en cuanto la producción de ROS en los pacientes sobrevivientes contra los fallecidos, siendo significativamente mayor en esta última población. Nuestros resultados mostraron que los pacientes de la UCI del INER, tuvieron NAC, asociada con hiperglucemia, neutrofilia y linfopenia en ambos casos, además de un aumento en la producción de ROS, siendo 3 días nuestro periodo de observación. Esto, sugiere la importancia de evaluar continuamente la glucosa, los neutrófilos y los linfocitos en pacientes de la UCI con diagnóstico primario de NAC, ya que la glucosa al elevarse puede estar provocando un incremento en la producción de radicales libres y eso influir directamente en un mal pronóstico para los pacientes de la UCI.

Palabras clave: Hiperglucemia, Linfopenia, Neutrofilia, Sepsis, Choque Séptico.

ABSTRACT

A common feature observed in patients admitted to the Intensive Care Unit (ICU) is the presence of hyperglycemia in the absence of prior history of diabetes. This rise in glucose concentration is known as stress hyperglycemia, and is considered as a negative factor for the evolution of patients in the ICU. Therefore, we conducted a prospective longitudinal study. We enrolled patients hospitalized in the ICU with pneumonia as diagnosis at INER. We extracted 3 blood samples starting at 24, 48 and 72 hours after admission. Samples were processed by flow cytometry to determine the production of reactive oxygen species (ROS), and patients were followed through their clinical data.

Our results showed that 87% of patients admitted to ICU admission had a diagnosis of community-acquired pneumonia (CAP). After admission all patients progressed to sepsis, and hyperglycemia. The highest concentrations of glucose were observed in patients who died (147mg/dl) compared with patients who survived (129 mg / dl) ($p < 0.001$). Additionally, we found that the total percentage of lymphocytes was lower in the group of patients who died (5.7 vs 11.8%, $p < 0.001$). We also found significant differences in ROS production in patients surviving against the deceased, being significantly higher in this population.

Our results showed that patients in the ICU of INER, CAP was associated with hyperglycemia, lymphopenia and neutrophilia in both cases, and an increase in the production of ROS, with 3 days of our observation period. This suggests the importance of continually assessing glucose, neutrophils and lymphocytes in ICU patients with a primary diagnosis of CAP, as the glucose rise may be causing an increase in free radical production and that directly influence a poor prognosis for ICU patients.

Key Words: hyperglycemia, lymphopenia, neutrophilia, sepsis, septic shock

1. INTRODUCCIÓN

Los pacientes Críticamente Enfermos, que requieren ser ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), presentan un aumento significativo en el riesgo de muerte, además, la presencia de morbilidades puede variar de un 20 a un 80%. Un alto porcentaje de los pacientes hospitalizados en la UCI presentan Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS), entidad clínica que nos indica una patología subyacente.^{1, 41}

1.1 Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica y Sepsis

El SRIS es el resultado de las adaptaciones inmunológicas que genera nuestro organismo para responder ante cualquier tipo de agresión, sea infecciosa o física. Para documentar que un paciente cursa con el SRIS, tenemos en cuenta los criterios clínicos que se enumeran a continuación:

- Fiebre, más de 38°C o hipotermia con menos de 36°C
- Frecuencia cardíaca de más de 90 latidos por minuto.
- Frecuencia respiratoria de más de 20 respiraciones por minuto, o en caso de tener una gasometría, que presente PaCO₂ de menos de 32mmHg.
- Cuenta de leucocitos mayor de 12,000μL o menor de 4000μL, o la presencia de formas inmaduras (bandas) >10%.

El SRIS presenta un espectro clínico muy amplio y tiene diferentes variantes según su causa y presentación clínica; cabe aclarar los siguientes conceptos:

- Sepsis: SRIS más la evidencia de un foco infeccioso activo, entendiendo que existen gérmenes patógenos en alguna parte del organismo.
- Sepsis grave: cuando existe sepsis y la presencia de datos clínicos como la hipotensión, oliguria y trastornos del estado mental, que nos orientan a pensar que el paciente cursa con hipoperfusión tisular.
- Choque Séptico: Sepsis grave con hipotensión, misma que no responde de forma adecuada a la terapia intravenosa de líquidos.

- Falla Orgánica Múltiple: Se debe a la disfunción de uno o varios órganos debido a la hipoperfusión tisular en el choque séptico e incluso en un SRIS desencadenado por agentes no infecciosos como es el caso de una pancreatitis grave.²⁰

1.2 Antecedentes Generales

La evolución del SRIS la sepsis en los pacientes críticamente enfermos está asociada con diversas alteraciones metabólicas, entre las que destaca la hiperglucemia. Conocemos como hiperglucemia inducida por estrés, a la elevación de la glucosa sanguínea a causa de una enfermedad grave, por citar algunas: la neumonía, las pancreatitis, y los traumatismos graves.^{1, 14}

1.3 Hiperglucemia Inducida por Estrés

La hiperglucemia inducida por estrés en los pacientes críticamente enfermos es resultado del SRIS. Cuando se da el estímulo inicial que desencadena el síndrome, dentro de su fisiopatología, se liberan diversos mediadores químicos conocidos como citocinas. Las citocinas son sustancias pleiotrópicas y entre sus funciones se encuentran el modular la respuesta inflamatoria, por lo tanto las podemos clasificar dentro de dos grupos: citocinas proinflamatorias y citocinas antiinflamatorias.²⁰

Dentro del grupo de citocinas proinflamatorias, podremos citar al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α por sus siglas en inglés), las Interleucinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6) y el interferón gamma (IFN- γ) entre otras. Estas sustancias son capaces de estimular diversos órganos y tejidos, entre los que se encuentran: el hígado, las glándulas suprarrenales. Las citocinas estimulan los órganos blanco, ocasionando que estos secreten hormonas, como el glucagón, el cortisol y la adrenalina; a la vez que se reduce la secreción de insulina en el páncreas.³⁰

Las hormonas mencionadas anteriormente, tienen un efecto antagónico a la

insulina; es decir, sus efectos son catabólicos y generan un incremento en la oxidación de sustratos para producir glucosa, con la consecuente elevación de la misma.³

Algunas citocinas proinflamatorias, en particular el TNF- α , producen resistencia a la insulina en los tejidos periféricos (tejido adiposo y músculo esquelético), que aunado al incremento en la producción de la glucosa, se genera lo que se conoce como Hiperglucemia por Estrés.^{1,6}

1.4 Hiperglucemia y Función Inmunológica

Desde hace algunos años, existen reportes de los efectos negativos que tiene la hiperglucemia en la respuesta inmunológica del organismo, por ejemplo: hay artículos que hablan sobre el efecto proinflamatorio de la glucosa, siendo que ésta, es capaz de aumentar los niveles plasmáticos de IL-1, IL-8 y el TNF- α . También se ha documentado que la glucosa induce un incremento en expresión del factor de transcripción NF-kappaB, un factor clave para la respuesta inflamatoria.^{5, 6, 10}

En Japón, Ryosuke Tsuruta, llevó a cabo un estudio en roedores, que consistió en un modelo de isquemia-reperfusión cerebral, estableció dos grupos: el primero, que mantuvo concentraciones de glucosa basales, y el segundo, en el que las concentraciones de glucosa se mantuvieron elevadas. Él demostró que en el grupo de hiperglucemia, se produjo un mayor daño tisular, e incrementó la producción de citocinas proinflamatorias, concluyendo que la hiperglucemia amplifica la respuesta inflamatoria ante un estímulo inicial. De lo anterior, existen reportes similares en poblaciones humanas por lo que inferimos que la glucosa es un agente proinflamatorio muy poderoso.¹⁸

1.5 Hiperglucemia y Leucocitos

La glucosa no nada más es capaz de alterar la secreción de citocinas y de factores de transcripción genéticos. Sabemos, por los estudios que se han

realizado en pacientes diabéticos, que también ejerce un efecto negativo en la función de las células que participan en montar la respuesta inmunológica tanto en sus formas innata y adaptativa, entre ellos: neutrófilos y linfocitos respectivamente.¹²

En la diabetes mellitus se presentan elevaciones de glucosa sostenida en tiempo, que finalmente, es lo que lleva producir cambios en las funciones celulares. La diferencia de la hiperglucemia por estrés durante el SRIS en los pacientes críticos, radica en que la elevación de la glucosa, se presenta de forma aguda; sin embargo, existe evidencia de que esta elevación abrupta de las cifras de glucosa plasmática, es capaz de generar cambios en las poblaciones celulares citadas anteriormente, por citar algunos autores: Von Känel en el 2001, documentó cambios en linfocitos T CD4, CD8, B y células asesinas naturales (NK por su nombre en inglés *Natural Killers*) e Ines Kauffmann en 2006 encontró ciertos cambios en la función productora de ROS en neutrófilos, asociados a elevaciones controladas de glucosa, posterior a una ingestión de 75g, en pacientes sanos.¹⁴

Con lo anterior, documentamos que los pacientes críticamente enfermos presentan SRIS o alguna de sus variantes, que entre sus alteraciones metabólicas, se presenta la hiperglucemia. Por tanto identificamos la hiperglucemia, como uno de sus componentes claves. La hiperglucemia presente durante la sepsis, es capaz de generar cambios en la respuesta inmunológica del hospedero y por consiguiente afectar la capacidad del sistema inmunológico para erradicar al organismo causal, y finalmente, alterar su evolución clínica durante su estancia en la UCI.

2. Antecedentes Directos

Lo descrito anteriormente, refuerza el hecho de que la hiperglucemia resulta en daños en diversas células, tejidos y órganos.^{23, 24} Michael Brownlee en 2001, describe el mecanismo asociado al inicio de las complicaciones durante la hiperglucemia crónica, siendo un incremento en el estrés oxidativo,

consecuencia de una mayor síntesis de Especies Reactivas del Oxígeno (ROS) por parte de la cadena de transporte mitocondrial.¹⁸

A la fecha, todavía no es claro qué beneficios nos ofrece un control estricto de la glucosa sanguínea en los pacientes críticamente enfermos hospitalizados en la UCI. Existe la teoría, que el control de la glucosa puede disminuir la respuesta inflamatoria, esto con base en lo descrito anteriormente, que se considera la glucosa como un poderoso agente pro-inflamatorio; además al disminuir su concentración en sangre, también se puede inferir, que disminuirá la tasa de producción de ROS.^{14, 15, 16, 17}

Algunos autores evaluaron la función de los leucocitos a diferentes concentraciones de glucosa, por ejemplo: en el año 2000, Priya Mohanty, encontró por primera vez, que la glucosa estimula la generación de ROS en leucocitos (polimorfonucleares y mononucleares) de pacientes sanos, a los cuales se les había administrado una carga de glucosa oral de 75g.¹³

Marc G. Jeschke en Alemania, realizó un estudio en el 2004. Le dio seguimiento a 28 niños hospitalizados por quemaduras que manifestaron SRIS; un grupo de niños se mantuvo con un control glucémico a base de insulina con rangos entre 120 y 180mg/dl, mientras que se prescindió de esta terapéutica en el otro grupo. Demostró que su grupo tratado, presentó concentraciones de citocinas proinflamatorias en sangre, significativamente menores que el grupo no tratado. Esto permite sugerir el uso de insulina para controlar la hiperglucemia en la UCI.^{12, 19, 21}

Por otro lado, se ha descrito, la disfunción de los leucocitos durante enfermedades críticas como la sepsis.²⁰ Retomando el estudio de Inés Kauffmann, del 2006, en que comparó la producción de ROS en las células polimorfonucleares, obtenidas de pacientes críticamente enfermos por sepsis, con células polimorfonucleares provenientes de voluntarios sanos. Los resultados mostraron diferencias significativas en la producción de ROS en el grupo de pacientes con enfermedad crítica, hecho ligado con la severidad de la enfermedad. Asimismo, demostraron que los polimorfonucleares de los

pacientes graves, aumentaban significativamente su producción de ROS con respecto a los controles.²³

Los pacientes hospitalizados en la UCI del INER, se presentan como una población con enfermedad crítica por neumonía. En resumen, presentan sepsis y además, el aumento en la concentración de la glucosa se asocia con una mayor severidad clínica.^{2, 3, 5} Así la hiperglucemia, se asocia con un mal pronóstico debido al aumento del estrés oxidativo y ROS, ya que su presencia se ha relacionado con el aumento en la morbilidad y en la mortalidad de los pacientes hospitalizados en la UCI.^{3, 4}

2.1 Especies Reactivas de Oxígeno

Las especies reactivas de oxígeno son compuestos altamente reactivos que tienen la capacidad de dañar células y tejidos. Anteriormente se mencionó que Michael Brownlee supone el aumento de ROS como un el factor principal para el desarrollo de complicaciones a causa de hiperglucemia.³⁹

Normalmente, se están produciendo ROS en la cadena de transporte mitocondrial celular, sin embargo la célula cuenta con mecanismos antioxidantes que se encargan de amortiguar la carga de ROS generados: la superóxido dismutasa y la catalasa son dos enzimas, cuya función consiste en transformar el radical superóxido (O_2^-) en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y finalmente en oxígeno libre (O_2) libre y H_2O .⁴⁰

Los sistemas antioxidantes son saturables, y por ello, se requieren de mecanismos amortiguadores extras, como algunas vitaminas (C y E) y el glutatión, que se encargan de captar los ROS, evitando que dañen las membranas celulares.⁴⁰

La producción de ROS se ve aumentada de forma significativa durante la presencia de hiperglucemia, cuando es crónica (en diabetes mellitus 1 y 2) se describen 4 mecanismos fundamentales que no se abordarán en este escrito, debido a que estudiaremos la influencia de elevación de la glucosa de forma

aguda, descrita ampliamente en los párrafos previos. También existen reportes de elevación en la producción de ROS en pacientes críticamente enfermos, pero en estos reportes no han buscado una posible asociación entre niveles de glucosa sanguínea y ROS.⁷

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tenemos resultados contradictorios acerca de los beneficios que el control estricto de glucosa puede tener en los pacientes hospitalizados en la UCI. Esto hace necesario evaluar, algunos de los tipos celulares o elementos asociados con una adecuada respuesta por parte del paciente de la UCI. Partiendo de esto, el seguimiento del paciente debe ser estricto y estrecho, además de que es necesario una capacitación para el personal encargado de regular los niveles de glucosa en sangre.

Michael Brownlee, que sugirió la importancia del estrés oxidativo, como una de las causas principales en desarrollo de complicaciones durante la diabetes mellitus; asimismo, él propuso que es más nocivo el hecho que un paciente desarrolle picos de hiperglucemia, a que mantenga la glucosa alta durante el tiempo. Es sumamente relevante resaltar, que en los pacientes críticamente enfermos, se observa un patrón variable de picos de hiperglucemia sanguínea, lo cual sugiere que esta elevación abrupta en la concentración de glucosa, puede estar asociada con una mala evolución del paciente en la UCI.

Los resultados de los modelos experimentales, así como en humanos, muestran a la hiperglucemia como un potenciador de la respuesta inflamatoria y en consecuencia como un inductor de la producción de ROS, contribuyendo al daño celular, y en general, modificando la respuesta del huésped ante una agresión. Desconocemos, si este aumento en la concentración de la glucosa sanguínea tiene un efecto directo para provocar una respuesta deficiente del paciente con sepsis; sin embargo, las evidencias sugieren que esto puede presentarse como consecuencia del estrés oxidativo, que tendría como efecto un mal pronóstico, aumentando las complicaciones, aumentando el tiempo de estancia hospitalaria y por consiguiente los costos de personal y de recursos hospitalarios.

4. JUSTIFICACIÓN

En este estudio se buscó una relación entre los niveles de glucosa sanguínea y la producción de ROS por parte de leucocitos; con el fin de entender mucho más sobre la patogénesis de la sepsis, y el papel que juega la glucosa en alterar la respuesta inflamatoria de un paciente con una enfermedad grave.

En base a los resultados, podemos sugerir o descartar el control de la glucosa en la población de nuevo ingreso en la UCI e incluso se pueden plantear nuevos esquemas de tratamiento, o diseñar terapéuticas que beneficien directamente al paciente en su evolución clínica, misma que impactaría de forma significativa en los costos de la hospitalización en la Institución.

El campo en el que se incursionó, es novedoso, debido a los resultados controversiales ante el control glucémico en pacientes graves, que aunque la literatura menciona los efectos benéficos en cierto grupo de pacientes, hace falta más información, y hasta el momento existen pocos estudios que evalúen la función de los leucocitos y su producción de ROS en pacientes con sepsis y sobre todo: que busquen relacionarlo con la hiperglucemia inducida por estrés para concluir que, esta puede alterar las funciones celulares y que conlleve consecuencias importantes para la evolución del paciente.

Contribuimos a conocer la patogénesis del padecimiento, en un futuro se podrán diseñar formas mucho más efectivas para el control de un paciente críticamente enfermo, que si ya de por sí, presentan todo un reto a los especialistas de esta rama. En cuanto al coste del Sistema Nacional de Salud generan un gasto enorme, mismo que puede disminuirse si conocemos a fondo la fisiopatología de la enfermedad y por ello indicar la terapéutica necesaria. Este tipo de padecimientos tiene un impacto significativo en la calidad de vida del paciente, muchas veces gresan con secuelas que también requerirán tratamiento de rehabilitación si es que no son irreversibles.

Todo lo anterior puede mejorar al iniciar un tratamiento mucha más específico, oportuno y eficaz

5. HIPOTESIS

La hiperglucemia presente en los pacientes críticamente enfermos, se relaciona directamente con una elevación en la producción de especies reactivas de oxígeno en leucocitos, misma que contribuye a una mala evolución clínica.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

- Determinar si existe relación directa entre hiperglucemia y la producción de especies reactivas de oxígeno de los leucocitos de los pacientes críticamente enfermos.

6.2 Objetivos Específicos

- Correlacionar el resultado de los niveles de ROS con la evolución clínica de los pacientes críticamente enfermos.
- Determinar si existe asociación entre un buen control glucémico y los niveles de ROS en los pacientes con sepsis.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo y longitudinal, donde se determinó si existe asociación entre niveles de glucosa sanguínea y la producción de ROS por parte de los leucocitos y posteriormente cómo influye esta producción en la evolución clínica de los pacientes con enfermedad crítica, hospitalizados en la UCI.

El periodo de reclutamiento se llevó a cabo de Diciembre del 2010 a Marzo del 2011. Todos los individuos fueron seguidos prospectivamente, desde su ingreso a la UCI y salida de la misma, sea por defunción o por mejoría. Durante su estancia en hospitalización se obtuvieron muestras sanguíneas a las 24, 48 y 72 horas con el fin de determinar ROS; y por medio de un cuestionario

estandarizado, se recopiló información de la estancia que incluye las variables a estudiar. (ANEXO1)

Posteriormente se clasificaron en pacientes vivos y fallecidos, y se compararon las diversas variables que se estudiaron.

7.1 Población de Estudio

La población se generó a partir de todos los pacientes que ingresaron a urgencias del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) que cumplieron criterios para sepsis principalmente con Neumonía Adquirida en la Comunidad hospitalizados en la UCI. Todos los individuos fueron reclutados en el INER.

7.2 Selección y reclutamiento de pacientes

Se realizó un escrutinio a todo paciente que ingresó a la UCI del INER, posteriormente si cumplió los criterios de inclusión se procedió a buscar a los familiares, a los que se les explicó el objetivo del estudio. Si aceptaban que su familiar hospitalizado participara en el estudio, se procedió con la firma del consentimiento informado en presencia de dos testigos.

Los pacientes fueron reclutados a partir de su ingreso en la UCI con el diagnóstico comentado previamente y realizado por un médico adscrito intensivista. No se utilizó esquema de muestreo para la selección pues se pretendió reclutar a todos los pacientes diagnosticados durante el periodo de estudio.

Sólo se reclutaron pacientes, que sus familiares firmaron el consentimiento informado y posteriormente se inició con la recolección de la información por medio de un cuestionario estructurado específicamente para este estudio.

7.3 Criterios de Inclusión

- Pacientes que llegaran a Urgencias y posteriormente fueron hospitalizados en la UCI con diagnóstico de Neumonía Adquirida en la Comunidad y que cumplieran dos o más de los siguientes parámetros a su ingreso:

- Temperatura corporal $>38^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$
- Frecuencia respiratoria >20 respiraciones por minuto o $\text{PCO}_2 <32\text{mmHg}$
- Pulso >90 latidos por minuto
- Recuento leucocitos $>12.000/\text{ml}$ o $<4000/\text{ml}$; o 10% de bandas.
- Mayores de 18 años y menores 60 años.
- Ambos Sexos
- Que su familiar haya firmado el consentimiento informado.

7.4 Criterios de Exclusión

- Pacientes con antecedente de Diabetes tipo 1 y 2.
- Pacientes con antecedentes de enfermedades autoinmunes.
- Pacientes con VIH.
- Pacientes con enfermedades linfoproliferativas.

7.5 Criterios de eliminación

- Paciente que firme consentimiento informado y que durante su seguimiento no se le pueda tomar una muestra de sangre.

7.6 Toma de Muestra

La toma de muestra se realizó en los pacientes hospitalizados en la UCI de los que se obtuvo el consentimiento informado y ésta se realizó a las 24, 48 y 72 horas de su ingreso; en cada toma se extrajeron como máximo 2 tubos vacutainer color lila con EDTA de 6ml, para generar un total de 6 tubos por paciente. La extracción de sangre venosa total se realizó directamente del catéter con la técnica adecuada para el caso, o en su defecto mediante punción venosa directa con el sistema *vacutainer*.

La toma de muestra fue llevada a cabo por el personal del proyecto o cuando se requirió, se solicitó ayuda al personal de la UCI.

7.7 Procesamiento de la Muestra

Una vez en el laboratorio, una de las muestras se centrifugó a velocidad de 3000 revoluciones por minuto por 10 minutos. Se obtuvo el plasma de la muestra y se congeló a -70 °C hasta su utilización. De la muestra restante se realizó la separación de los leucocitos totales por gradientes con el uso de Lymphoprep. En estas células se determinó la producción de ROS intracelulares por citometría de flujo.

7.8 Determinación de Especies Reactivas de Oxígeno:

Estas se determinaron en los leucocitos totales, usando la sonda DCFH-DA (Molecular Probes). Un total de 20 000 células fueron incubadas con 10 μ mol de DCFH-DA en un volumen de 1ml de solución salina de Hank's por 15 min. Al término de este tiempo se leyeron en un citómetro de flujo Facscalibur Instrument (San Jose, CA, USA).

7.9 Tamaño de muestra

Mediante muestreo por conveniencia y factibilidad técnica y financiera, se estableció que la población de estudio debe ser de al menos 30 pacientes

8. RESULTADOS

El tipo de población que ingresó a la UCI del INER fueron pacientes que presentaron insuficiencia respiratoria aguda a causa de neumonía adquirida en la comunidad (87%) y/o crisis asmática grave (13%). Sus características se resumen en el **Cuadro 1**.

Tabla 1. Características de base de los pacientes ingresados a la UCI.

	Desenlace	
	Sobrevivientes	Fallecidos
Sexo		
<i>Femenino</i>	8	1
<i>Masculino</i>	13	8
<i>Total</i>	21	9
Diagnóstico de Inicio		
NAC	17 (81%)	9 (100%)
Crisis Asmática	4 (19%)	0 (0%)
Edad (media/años)	39	48
<i>Err Est.</i>	2.559	3.317
IMC (media)	27.99	26.67
<i>Err Est.</i>	1.188	1.143
Días estancia hospitalaria	21.52	21.89
<i>Err. Est.</i>	2.920	5.251

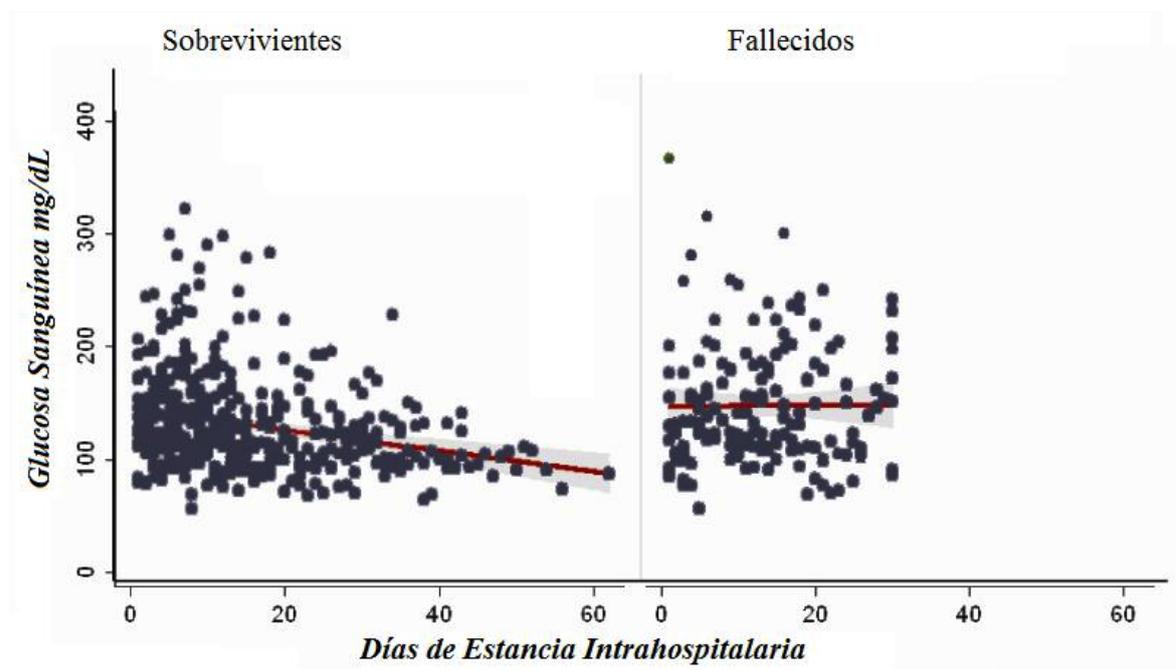
En el grupo de pacientes sobrevivientes se encontraron algunas características individuales que se listan a continuación: en un total de 4 pacientes el diagnóstico de ingreso fue por crisis asmática; de estos, en 2 pacientes no se tuvieron comorbilidades; 1 de ellos presentó hiponatremia durante su estancia y uno era adicto a la cocaína. No se documentó el tipo de infección viral o bacteriana en estos 4 pacientes. En los 17 pacientes restantes que sobrevivieron y que ingresaron por neumonía adquirida en la comunidad (CAP), uno presentaba obesidad mórbida más infección por H1N1, otro tenía lesión medular a nivel de T12, otro paciente desarrolló insuficiencia renal durante su estancia, un paciente contaba con diagnóstico de distrofia muscular de Becker y uno más con anemia; sólo se estableció el diagnóstico etiológico de la neumonía en 2 pacientes, infección por H1N1 y otro para *Escherichia coli*. En los 15 pacientes restantes no se documentó la infección por un microorganismo específico .

En el grupo de pacientes fallecidos (n=9), la causa de muerte para todos los pacientes fue choque séptico a causa de neumonía, sin embargo, encontramos en 2 pacientes infección previa por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, uno de los cuales presentaba adicionalmente Diabetes Mellitus tipo 2. En otros dos pacientes se obtuvo PCR positiva para H1N1 y en 1 más para Influenza A; los 4 pacientes restantes no tienen un diagnóstico etiológico preciso a pesar de que se realizaron las pruebas de escrutinio.

En este estudio predominó el sexo masculino en los pacientes ingresados, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas con respecto a esto ($p=0.149$). La media de edad para los participantes que sobrevivieron es de casi 10 años contra los pacientes fallecidos, estadísticamente encontramos una tendencia ligeramente significativa ante estos datos ($p=0.045$). El índice de masa corporal no tuvo cambios significativos ($p=0.377$) en ambos grupos, y tampoco se encontraron diferencias en cuanto a tiempo de estancia intrahospitalaria ($p=0.856$). Todos los pacientes ingresaron por Insuficiencia Respiratoria Aguda, en donde el 81% presentó Neumonía adquirida en la comunidad y el 13% Crisis Asmática. Un 43% de los pacientes presentó comorbilidades y 2 pacientes presentaban infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

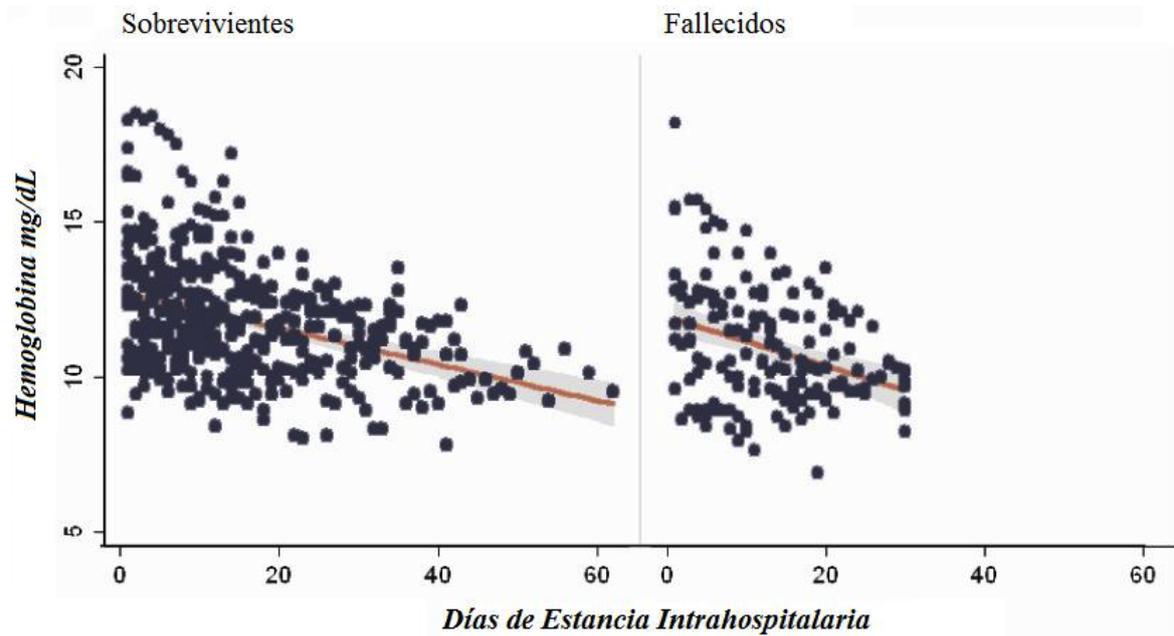
El análisis de la información obtenida del expediente clínico indicó que los pacientes evolucionaron a sepsis. Las características clínicas que se utilizaron para dar el diagnóstico de sepsis fue presentar 2 o más de las siguientes características a consecuencia de un foco infeccioso: temperatura corporal $>38^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$, Frecuencia Respiratoria >20 por minuto o una $\text{PCO}_2 <32\text{mmHg}$, pulso >90 latidos por minuto, cuenta leucocitaria de $>12 \times 10^3$ o $<4 \times 10^3$ o más de 10% de formas inmaduras.

Al considerarse a la elevación en la concentración de glucosa en sangre como un factor de riesgo para la evolución del paciente que ingresa a la UCI, pensamos importante analizar las variaciones en la concentración de glucosa sanguínea en los pacientes evaluados. La determinación de la concentración de glucosa en sangre mostró una mayor concentración de esta en el grupo de pacientes que fallecieron (Media de 147mg/dL, IC 138-155, 95%) en comparación con el grupo de pacientes que sobrevivieron (Media de 129mg/dL, IC 125-134, 95%), diferencia que resultó estadísticamente significativa ($p < 0.001$). **(Figura 1)**

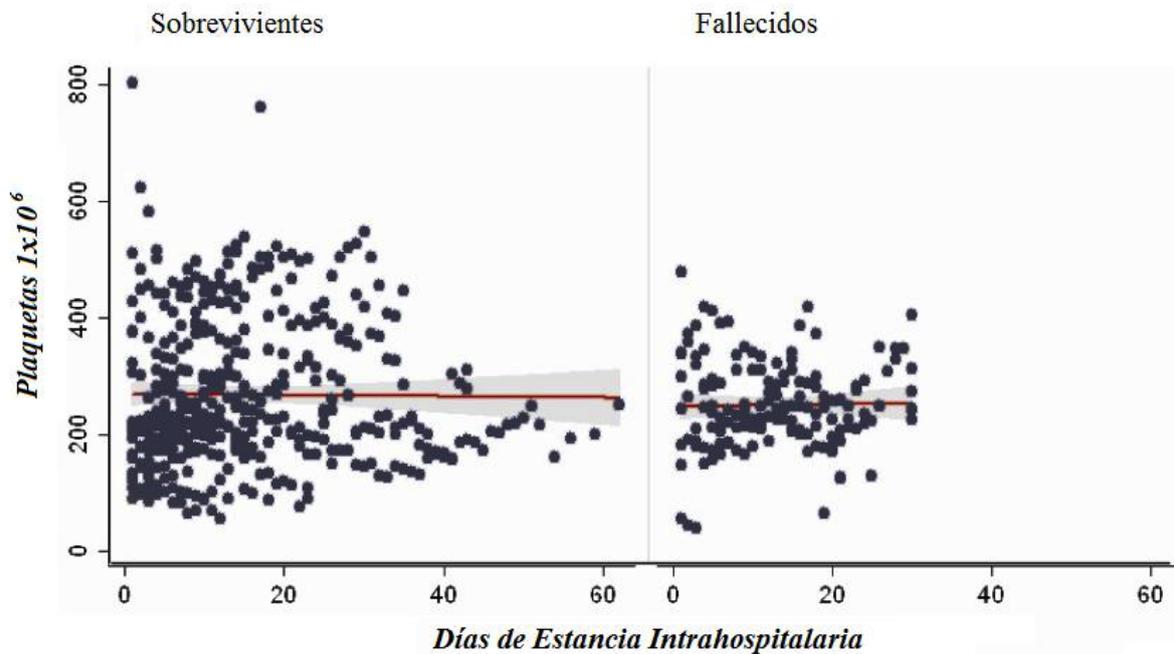


La evaluación de la concentración de hemoglobina mostró una disminución en el grupo de pacientes fallecidos (Media 11.8mg/dL, IC 11.6-12.0, 95% VS

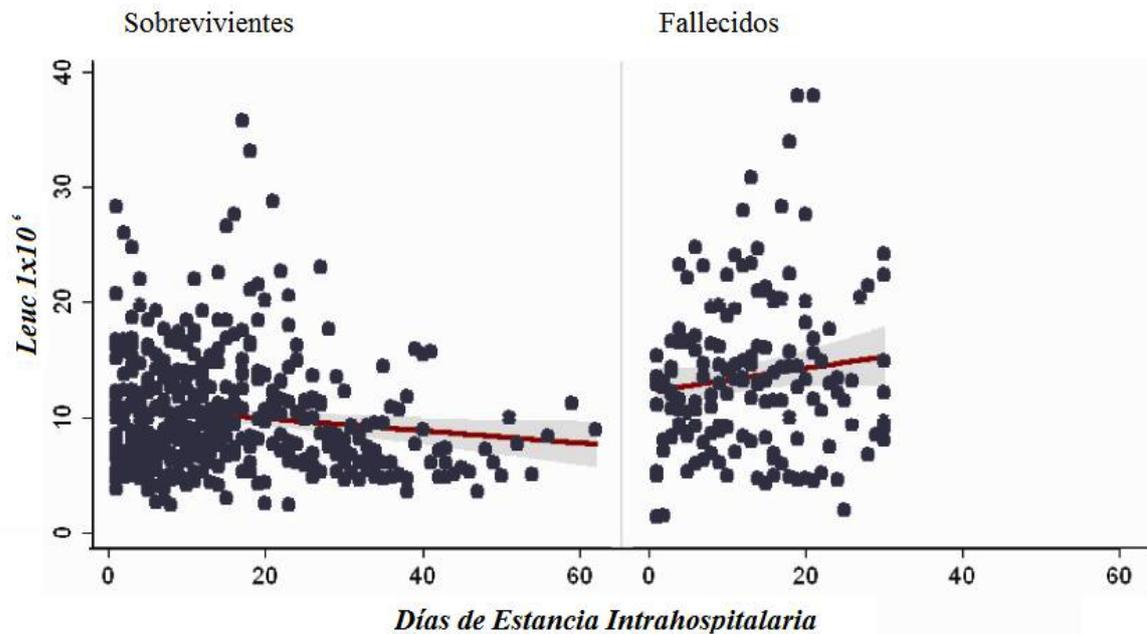
10.9mg/dL, IC 10.6-11.2, 95%), y esta variación resultó estadísticamente significativa ($p < 0.001$). **(Figura 2)**



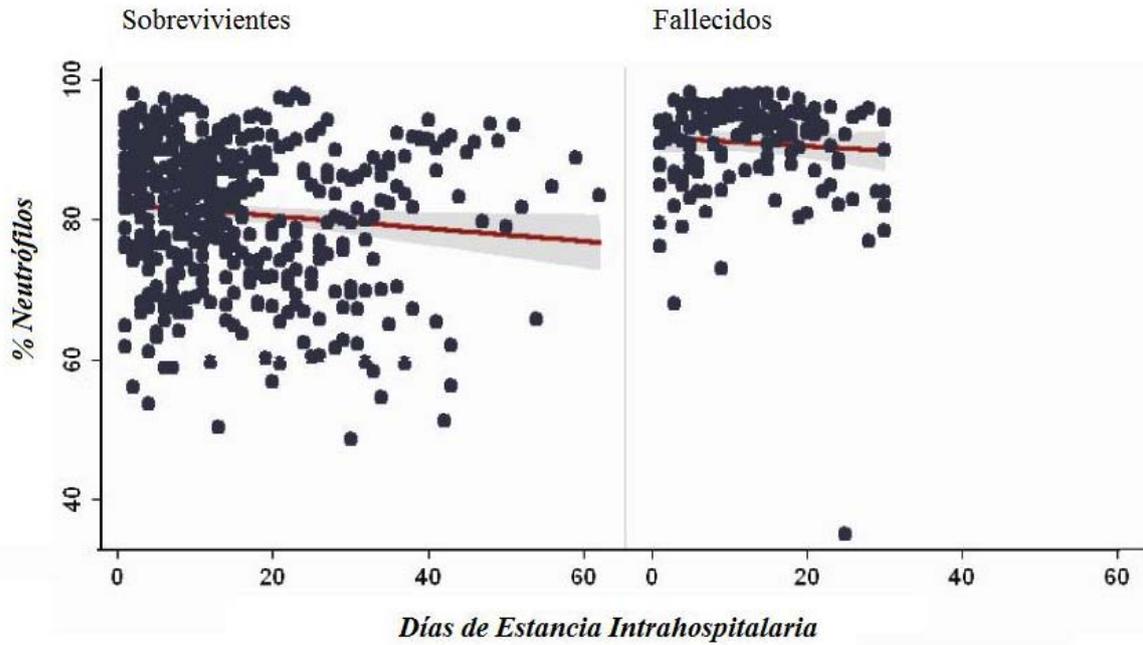
El número de plaquetas en los pacientes, no encontró diferencias estadísticas significativas entre ambos grupos (Media 267.85×10^3 , IC 256-279.71, 95% VS 249×10^3 , IC 238.22-261.50, 95%) ($p = 0.877$). **(Figura 3)**



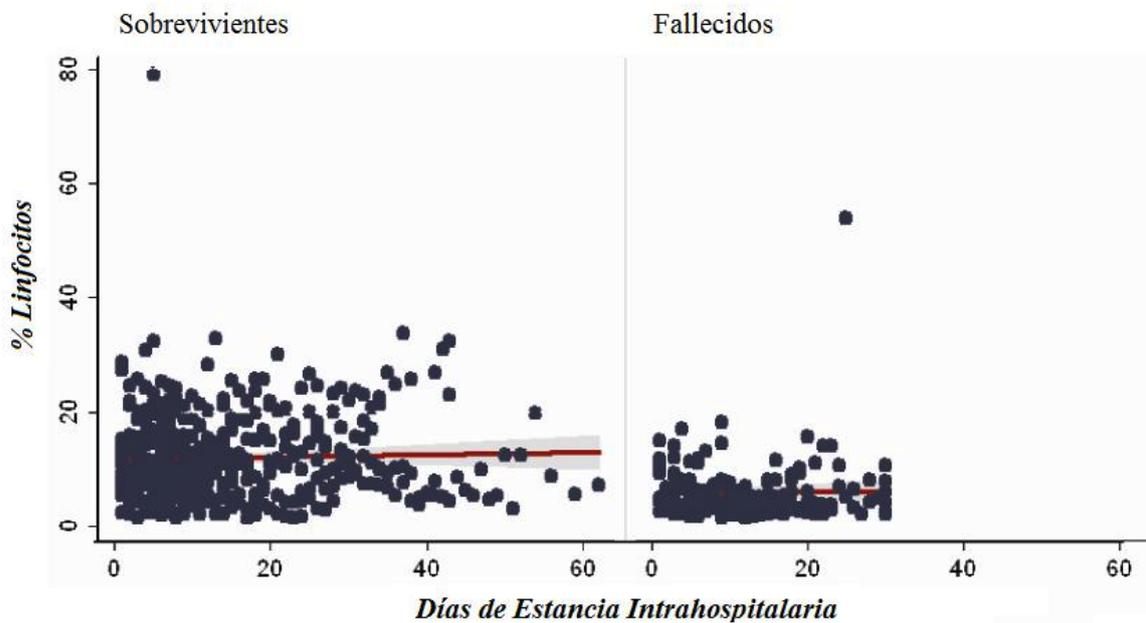
Los resultados sugieren una tendencia hacia la leucocitosis en los pacientes que fallecieron (Media 13.54×10^3 , IC 12.47-14.16, 95%) en comparación con los pacientes que sobrevivieron (Media 10.145×10^3 , IC 9.6-10.6, 95%), las pruebas estadísticas de los datos encontraron diferencias significativas ($p < 0.001$). **(Figura 4).**



El análisis mostró, una tendencia hacia la neutrofilia en los pacientes que fallecieron (Media 90.79%, IC 89.8-92.1, 95%), en comparación con los que sobrevivieron (Media 80.96%, IC 79.9-81.9, 95%). Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$). **(Figura 5)**



Finalmente otra población que sufrió cambios significativos fue la de los linfocitos. Se encontró un menor porcentaje de linfocitos totales en los pacientes fallecidos (Media 5.7%, IC 4.8-6.5, 95%) en comparación con los sobrevivientes (Media 11.8, IC 11-12.5, 95%) ($p < 0.001$). **(Figura 6).**



En cuanto a producción de Especies reactivas del oxígeno obtuvimos los siguientes parámetros, para la población sobreviviente. **(Figuras 7, 8 y 9)**

En la que observamos la fluorescencia emitida por la población correspondiente a leucocitos en células de pacientes hospitalizados en la UCI, a las 24, 48 y 72 horas de su ingreso. Sin encontrar cambios estadísticamente significativos entre ellas.

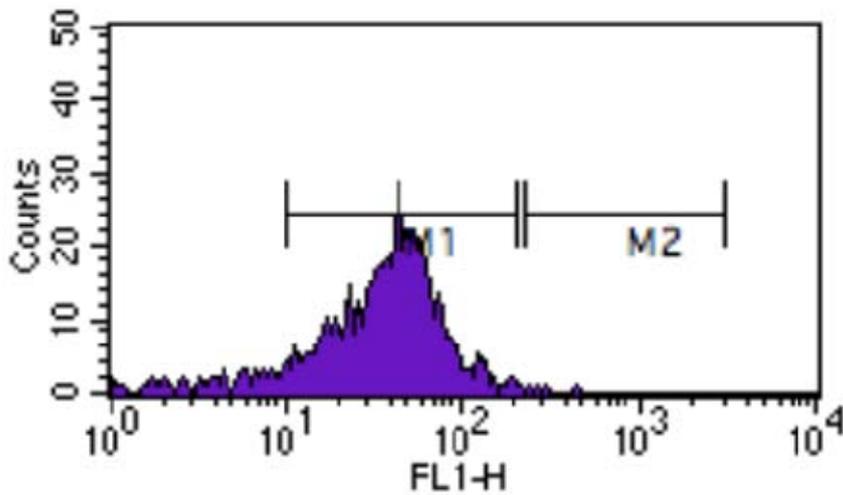


Figura 7. Producción de ROS en leucocitos a las 24 horas de su ingreso a la UCI en pacientes sobrevivientes.

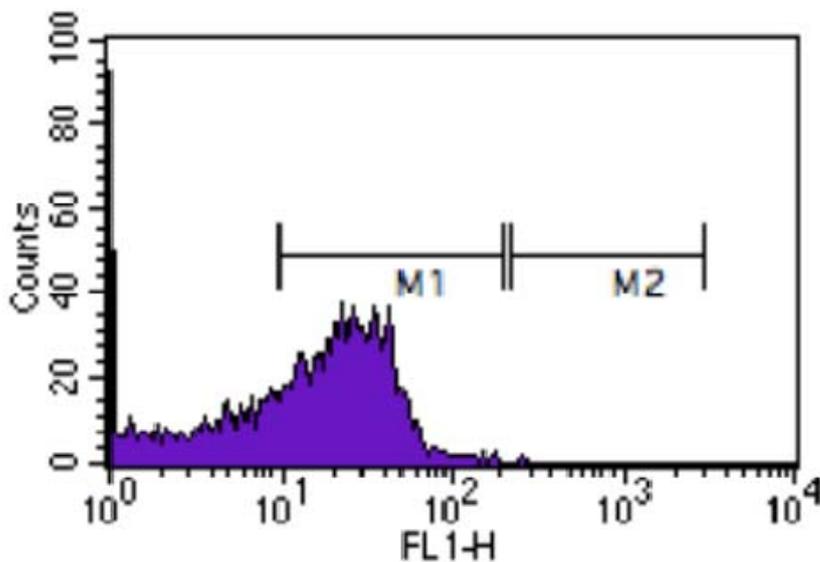


Figura 8. Producción de ROS en leucocitos a las 28 horas de su ingreso a la UCI en pacientes sobrevivientes.

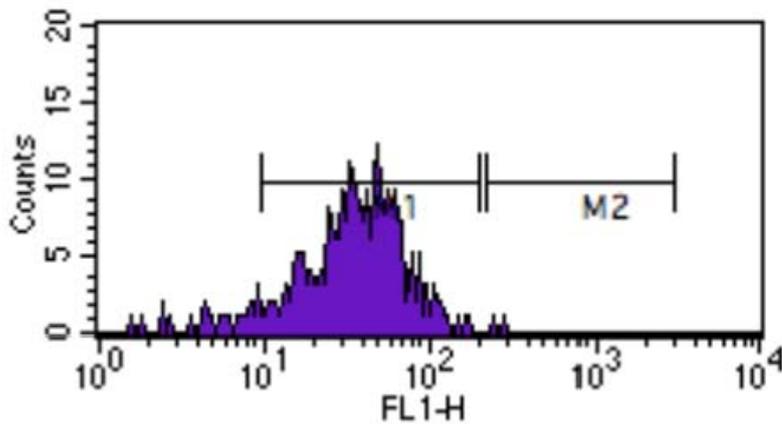


Figura 9. Producción de ROS en leucocitos a las 72 horas del ingreso a la UCI en pacientes sobrevivientes.

Los resultados con respecto a los pacientes fallecidos muestran una clara variación con respecto a los pacientes sobrevivientes. En las figuras encontramos que los participantes ingresan mucho más graves que los pacientes que sobrevivieron.

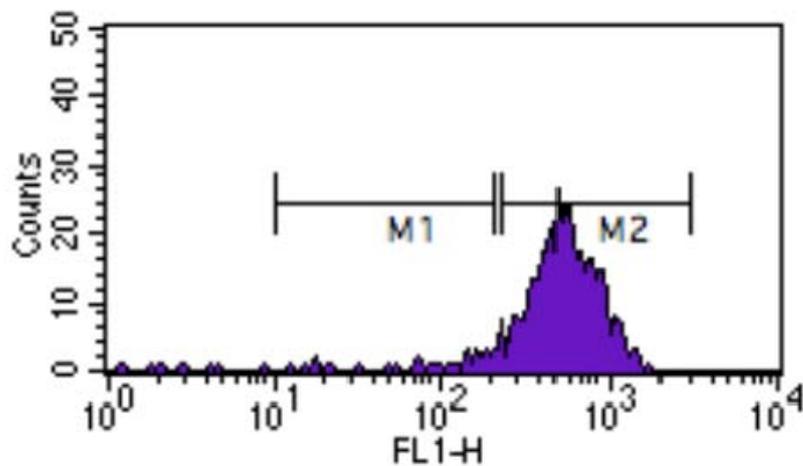


Figura 10. Producción de ROS en leucocitos a las 24 horas del ingreso a la UCI en pacientes fallecidos.

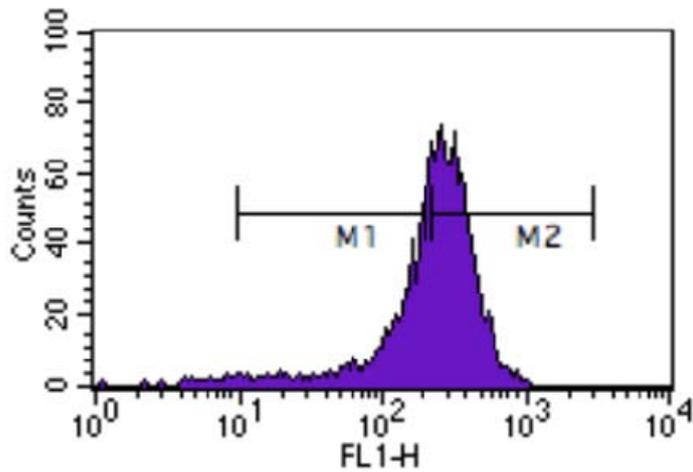


Figura 11. Producción de ROS a las 48 horas del ingreso a la UCI en los pacientes fallecidos.

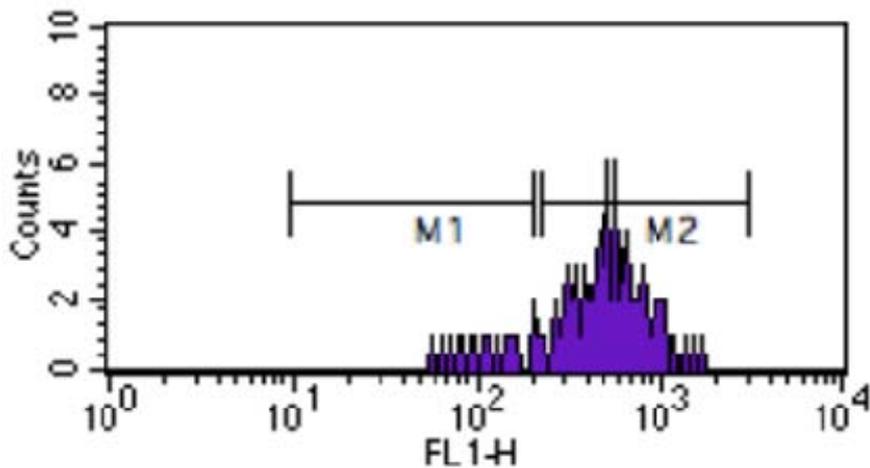


Figura 12. Producción de ROS a las 72 horas del ingreso a la UCI en los pacientes fallecidos.

Las diferencias entre ambos grupos resultaron estadísticamente significativas. ($p < 0.001$)

9. DISCUSIÓN

Los pacientes críticamente enfermos que presentan sepsis, se caracterizan por una respuesta inflamatoria sistémica y la cual va asociada con daño tisular generalizado.²⁷ Se maneja una incidencia de 200 a 300 casos por cada 100 000 habitantes, la cual aumenta un 8% por año de acuerdo con algunos autores. Las evidencias muestran que aproximadamente un 75% del total de pacientes que ingresan a la UCI desarrollan sepsis.²⁸ Asimismo, se considera que la mortalidad en estos pacientes va del 20 al 50% y hasta un 80% cuando evoluciona a choque séptico, lo cual resalta la importancia de evaluar aspectos que permitan un rápido y adecuado tratamiento en estos pacientes.²⁹ Una característica que se ha observado en los pacientes que ingresan a la UCI es la elevación en la concentración fisiológica de glucosa en sangre,¹⁻⁴ lo cual se considera un factor negativo para la evolución clínica del paciente.⁵ Adicional a lo anterior, se ha observado que el grado de hiperglucemia así como la duración de esta están asociadas al pronóstico de los pacientes críticos.³⁰ Sin embargo, a pesar de estas evidencias, aún desconocemos cuales serían los niveles de glucosa en sangre que podemos considerar como de riesgo para el paciente crítico.

Nuestros resultados mostraron una mayor concentración de glucosa en los pacientes que fallecieron. La media de la concentración de glucosa en los pacientes que fallecieron fue 147mg/dL. Estos resultados concuerdan con evidencias previas que reportan la elevación de la glucosa como un factor de mal pronóstico en los pacientes hospitalizados en la UCI.^{1, 2, 6} Sin embargo, los niveles de glucosa sanguínea que podemos asociar con el pronóstico del paciente son muy variables. Algunos autores consideran a una concentración de glucosa >135 mg/dl, como un predictor de muerte en pacientes hospitalizados en la UCI.³¹ Sin embargo en otros trabajos se considera a la concentración >151 mg/dl de glucosa en sangre como un factor de riesgo para el paciente crítico.³² En contraste, otros autores sugieren a una concentración de glucosa entre 80 y 110mg/dl como las más adecuadas para una reducción de la morbimortalidad en UCI quirúrgicas,^{1,6} sin embargo, en UCI no quirúrgicas esta concentración de glucosa se asocia con una disminución de la morbilidad

pero no de la mortalidad. En relación a esto el estudio de Chávez y Sánchez³³ realizado en 12 unidades de terapia intensiva en México, muestran a la concentración de glucosa <150 mg/dl en sangre como adecuada para disminuir el riesgo de morbilidad. Sin embargo, los mismos autores mencionan que es un parámetro que debe considerarse con cuidado.

No se conoce con certeza el efecto que esta elevación de glucosa produce en el sistema inmunológico de estos pacientes. Algunos modelos experimentales han mostrado que la elevación de la glucosa es capaz de amplificar la respuesta inflamatoria ante un estímulo inicial,¹⁸ mientras que las evidencias obtenidas en pacientes diabéticos muestra que la hiperglucemia altera la funcionalidad de los neutrófilos así como de los linfocitos.^{16, 17.} Por otra parte, se han descrito cambios en los neutrófilos de pacientes sanos posterior a la administración de una carga oral de glucosa.⁸ En nuestro estudio observamos que los pacientes que fallecieron muestran una tendencia a manejar cifras de glucosa más elevadas que nuestro grupo de sobrevivientes. Analizando y asociando con lo descrito previamente en la literatura, podemos suponer que una disminución de la concentración de glucosa en estos pacientes pudiera mejorar su evolución clínica en la UCI, al disminuir alteraciones (como las mencionadas) en las poblaciones celulares de estos pacientes. Algunos trabajos indican que ligeros aumentos de glucosa son capaces de producir una reorganización de las poblaciones de linfocitos,¹⁴ así como de inducir daño por una elevada producción de especies reactivas de oxígeno por los linfocitos.¹⁷

Los neutrófilos de los pacientes fallecidos mostraron una elevación significativa con respecto al grupo de sobrevivientes. Sabemos que la función de estas células es clave al iniciar la respuesta inmunológica innata contra las agresiones y que además son la primera célula que llega al sitio de la lesión y libera importantes mediadores químicos de la inflamación. Sin embargo, algunos estudios han mostrado la falla de los neutrófilos durante la sepsis.³⁵ Esta función deficiente de los neutrófilos se relaciona de forma directa con la mortalidad en sepsis severa, manifestándose clínicamente en infecciones más severas o con la falta de respuesta al tratamiento. Acerca de esto es importante mencionar, que recientemente se le ha asociado a estas células como importantes generadores de especies reactivas de oxígeno, lo cual lleva a daño

oxidativo a los tejidos.³⁶ Por estas razones, el aumento observado en los neutrófilos pudiera explicarse debido a una mala calidad en su función, motivo por el que los números se elevan en los pacientes que presentan una enfermedad más severa.

Los linfocitos juegan un papel principal al ser células efectoras y reguladoras de la respuesta inmunológica. En nuestros resultados observamos la presencia de linfopenia significativa en el grupo de pacientes fallecidos. La información previa relacionada con esto, menciona la presencia de apoptosis, así como una activación y respuesta deficiente en los linfocitos obtenidos de pacientes con sepsis, ante algún estímulo posterior.¹³ Nuestros datos sugieren que esto está probablemente sucediendo en las células de los pacientes evaluados en este estudio. La disminución en el número de linfocitos se ha podido asociar ya desde hace algún tiempo con una mala evolución y con el aumento en la incidencia de complicaciones infecciosas en los pacientes hospitalizados en la UCI.³⁴ Con lo anterior, se puede sugerir que la falta de estas células tanto como una función deficiente de ellas es capaz de generar un mal pronóstico para los pacientes de la UCI.

Es relevante mencionar que recientemente se han publicado evidencias que resaltan la presencia de alteraciones en la respuesta inmune asociadas con el proceso infeccioso primario. A este respecto de acuerdo con estos últimos autores, la neumonía adquirida en la comunidad (CAP), va ligada con una disminución en las poblaciones de linfocitos T y B. Por otro lado, se ha sugerido la presencia de un factor soluble en sangre, el cual es liberado de manera temprana y tiene la capacidad de modular la apoptosis de los linfocitos CD4 y de los monocitos CD14.³⁷

Ante todo lo anterior, también documentamos que los pacientes fallecidos, tuvieron una mayor producción de ROS con respecto a los pacientes sobrevivientes. Estos cambios pueden afectar la función de las células inmunológicas, como lo han documentado algunos autores, por citar un ejemplo Ines Kauffman. Es necesario realizar marcajes celulares para documentar si qué tipo de célula es la que está fallando y con ello ofrecer mejores terapéuticas.

Partiendo de todo lo anterior, la hiperglucemia puede afectar tanto de manera independiente, como al influir en la funcionalidad de los neutrófilos y los linfocitos así como en la producción de ROS, que vemos afectan de forma directa la evolución clínica del paciente de la UCI. Nuestros resultados muestran que todos estos elementos estuvieron presentes en los pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos del Instituto. Por lo tanto, esto resalta la importancia de evaluar de manera continua la concentración de glucosa, así como las variaciones en los porcentajes de neutrófilos y linfocitos presentes en estos pacientes, todo con el objetivo final de evitar complicaciones que pueden ser fatales para ellos.

10. CONCLUSIONES

Se corrobora la hipótesis en la que se planteó la posibilidad de encontrar incrementos en la producción de ROS por parte de leucocitos de pacientes críticamente enfermos que manifiestan sepsis. La elevación de ROS está asociada con un mal pronóstico a la vez que encontramos elevaciones de neutrófilos y disminución de linfocitos. Siendo estos dos aspectos factores clave en el asesoramiento y el tratamiento de los pacientes de la UCI. Parece no haber correlación entre los niveles de glucosa sanguínea y los números celulares de linfocitos, aunque los resultados sugieren que se ven afectadas en su capacidad de coordinar una respuesta inmunológica adecuada y consecuentemente se lleva a cabo del apoyo de la inmunidad innata con los neutrófilos.

Cabe aclarar que se requieren estudios que utilicen marcadores celulares con el fin de determinar las poblaciones directamente afectadas, existen algunos reportes que mencionan son los CD4 y los CD8, sin embargo esto puede variar según la región y la enfermedad.

Cabe aclarar que nuestros resultados son limitados, el tamaño de la muestra es pequeño, y además se llevaron a cabo un procesamiento de 3 muestras en total, ya no se realizaron tomas de muestras durante más tiempo debido a los recursos limitados para estos procedimientos.

La media de estancia para los pacientes fue de 21 días, sin embargo solo pudimos seguir su evolución por parámetros clínicos y ofrecer un esbozo de la función bioquímica de las células asociada al aumento de la glucosa sanguínea.

11. PERSPECTIVAS

Es necesario realizar nuevos estudios con marcadores de superficie, para linfocitos T, siendo CD4, CD8 los principales, para Linfocitos B y para células NK. Con ello podríamos determinar qué poblaciones se están viendo afectadas por la elevación de la glucosa, además, es necesario establecer un protocolo para la administración de insulina en los pacientes de la UCI, con ello se podría ofrecer un control adecuado de la glucemia y por consiguiente mejorar la función inmunitaria de las células mencionadas anteriormente. Entre muchos aspectos que quedan por aclarar, ofrecemos un panorama muy general de lo que acontece en los pacientes con enfermedad crítica a causa de sepsis, nuestros resultados se limitan a un tipo de población específica y haría falta diseñar protocolos que involucren una población mucho más heterogénea, para conocer a fondo los mecanismos involucrados y ofrecer mejores terapéuticas.

12. REFERENCIAS

1. Greet Van den Berge, Pieter Wouters, Frank Weekers, Charles Verwaest, Frans Bryuninckx, Miet Schetz, Dirk Vlasselaers, Patrick Ferdinande, Peter Lauwers, Roger Bouillon. Intensive Insulin Therapy in Critically Ill Patients. *N Engl J Med*, 2001; 345: 1359-1367.
2. Falciglia M, Freyberg RW, Almenoff PL, D'Alessio DA, Render ML. Hyperglycemia-related mortality in critically ill patients varies with admission diagnosis. *Crit Care Med*. 2009;37:3001–3009.
3. Hiroyuki Hirasawa, Shigeto Oda and Masataka Nakamura. Blood glucose control in patients with severe sepsis and septic shock. *World J Gastroenterol*, 2009; 15: 4132-4136.
4. Silvio E. Inzucchi. Management of Hyperglycemia in the Hospital Setting. *N Engl J Med*, 2006; 355: 1903-11.
5. Gale SC, Sicoutris C, Reilly PM, Schwab CW, Gracias VH. Poor glycemic control is associated with increased mortality in critically ill trauma patients. *Ann Surg*, 2007; 73: 454-60.
6. Van den Berghe G, Wilmer A, Hermans G, Meersseman W, Wouters PJ et al. Intensive insulin therapy in the medical ICU. *N Engl J Med*, 2006; 354: 449-61.
7. Michael Brownlee. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001; 414: 813-20.
8. Priya Mohanty, Wael HAmouda, Rajesh Garg, Ahmad Aljada, Husam Ghanim, Paresh Dandona. Glucose Challenge Stimulates reactive oxygen species (ROS) Generation by leucocytes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2000; 85: 2970-73.

9. Schuetz P, Yano K, Sorasaki M, Ngo L, St Hilaire M, Lucas JM, Aird W, Shapiro NI. Influence of diabetes on endothelial cell response during sepsis. *Diabetologia*, 2011: 996-1003.
10. Milman S, Crandall JP. Mechanisms of vascular complications in prediabetes. *Med Clin North Am*, 2001; 95: 309-25.
11. Giamarellos-Bourboulis EJ. What is the pathophysiology of the septic host upon admission? *Int J Antimicrob Agents*, 2010; 36: S2-5.
12. Delano MJ, Thayer T, Gabrilovich S, Kelly-Scumpia KM, Winfield RD, Scumpia PO, Cuenca AG, Warner E, Wallet SM, Wallet MA, O'Malley KA, Ramphal R, Clare-Salzer M, Efron PA, Mathews CE, Moldawer LL. Sepsis induces early alterations in innate immunity that impact mortality to secondary infection. *J Immunol* 2011;186:195-202.
13. Venet F, Davin F, Guignant C, Larue A, Cazalis MA, Darbon R, Allombert C, Mougins B, Malcus C, Poitevin-Later F, Lepape A, Monneret G. Early assessment of leukocyte alterations at diagnosis of septic shock. *Shock*, 2010; 34: 358-63.
14. Von Känel R, Mills PJ, Dimsdale JE. Short-term hyperglycemia induces lymphopenia and lymphocyte subset redistribution. *Life Sci*, 2001 69: 255-62.
15. Ayilavarapu S, Kantarci A, Fredman G, Turkoglu O, Omori K, Liu H, Iwata T, Yagi M, Hasturk H, Van Dyke TE. Diabetes-induced oxidative stress is mediated by Ca²⁺-independent phospholipase A2 in neutrophils. *J Immunol*, 2010; 184: 1507-15
16. Revital Shurtz-Swirski, Shifra Spela, Avraham T. Herskovits, et al. Involvement of Peripheral Polymorphonuclear Leukocytes in Oxidative Stress and Inflammation in type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care*, 2001. 24:104-110.

17. Stentz FB, Kitabchi AE. Hyperglycemia-induced activation of human T-lymphocytes with de novo emergence of insulin receptors and generation of reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005; 335: 491-5
18. Ryosuke Tsuruta, Motoki Fujita, Takeru Ono, et al. Hyperglycemia enhances excessive superoxide anion radical generation, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats. *Brain Res*, 2009; 1309: 155-63.
19. Stegenga ME, van der Crabben SN, Blümer RM, et al. Hyperglycemia enhances coagulation and reduces neutrophil degranulation, whereas hyperinsulinemia inhibits fibrinolysis during human endotoxemia. *Blood*, 2008; 112: 82-9.
20. Gustot T. Multiple organ failure in sepsis: prognosis and role of systemic inflammatory response. *Curr Opin Crit Care*, 2011; 17:153-9.
21. Słotwiński R, Słotwińska S, Kędziora S, Bałan BJ. Innate Immunity Signaling Pathways: Links between Immunonutrition and Responses to Sepsis. *Arch Immunol Ther Exp*, 2011;59:139-50.
22. Martins PS, Kallas EG, Neto MC, et al. Upregulation of reactive oxygen species generation and phagocytosis, and increased apoptosis in human neutrophils during severe sepsis and septic shock. *Shock*, 2003; 20: 208-12.
23. Alves-Filho JC, de Freitas Andressa, Spiller Fernando, et al. The Role of neutrophils in severe sepsis. *Shock*, 2008; 30: 3-9.
24. Alves-Filho JC, Tavares Murta BM, Barja-Fidalgo C, et al. Neutrophil function in severe sepsis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2006; 6: 151-8.

25. Kaufmann I, Hoelzl A, Schliephake, et al. Polymorphonuclear leukocyte dysfunction syndrome in patients with increasing sepsis severity. *Shock*, 2006; 26: 254-61.
26. Schroeder S., Lindemann C., Decker D., et al. Increased Susceptibility to apoptosis in circulating lymphocytes of critically ill patients. *Langenbeck's Arch Surg*, 2001; 386: 42-46.
27. Vincent JL, Martinez EO, Silva E. Evolving concepts in sepsis definitions. *Crit Care Nurs Clin North Am*, 2011; 23: 29-39.
28. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D; Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med*, 2006; 34: 344-53.
29. Esper A, Martin GS. Is severe sepsis increasing in incidence AND severity? *Crit Care Med*, 2007; 35: 1414-5.
30. Corstjens AM, van der Horst IC, Zijlstra JG, Groeneveld AB, Zijlstra F, Tulleken JE, Ligtenberg JJ. Hyperglycaemia in critically ill patients: marker or mediator of mortality? *Crit Care*, 2006; 10: 216.
31. Kreutziger J, Wenzel V, Kurz A, Constantinescu MA. Admission blood glucose is an independent predictive factor for hospital mortality in polytraumatised patients. *Intensive Care Med*, 2009; 35:1234-9.
32. Brunkhorst FM, Engel C, Bloos F, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weiler N, Moerer O, Gruendling M, Oppert M, Grond S, Olthoff D, Jaschinski U, John S, Rossaint R, Welte T, Schaefer M, Kern P, Kuhnt E, Kiehntopf M, Hartog C, Natanson C, Loeffler M, Reinhart K; German Competence Network Sepsis (SepNet). Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med*, 2008; 358:125-39.

33. Chávez-Pérez JP, Sánchez-Velázquez LD. Glucemia como un determinante de morbimortalidad en el paciente en estado crítico. *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int* 2009; 23: 25-30
34. Schroeder S., Lindemann C., Decker D., et al. Increased Susceptibility to apoptosis in circulating lymphocytes of critically ill patients. *Langenbeck's Arch Surg*, 2001; 386: 42-46.
35. Giamarellos-Bourboulis EJ. What is the pathophysiology of the septic host upon admission? *Int J Antimicrob Agents*, 2010; 36 :S2-5.
36. Guo RF, Ward PA. Role of oxidants in lung injury during sepsis. *Antioxid Redox Signal*, 2007; 9: 1991-2002.
37. Vaki I, Kranidioti H, Karagianni V, Spyridaki A, Kotsaki A, Routsis C, Giamarellos-Bourboulis EJ. An early circulating factor in severe sepsis modulates apoptosis of monocytes and lymphocytes. *J Leukoc Biol*, 2011; 89: 343-9.
38. Gogos C, Kotsaki A, Pelekanou A, Giannikopoulos G, Vaki I, Maravitsa P, Early alterations of the innate and adaptive immune statuses in sepsis according to the type of underlying infection. *Crit Care*, 2010;14(3):R96.
39. Ilias G. Kirkinezos, Carlos T. Moraes. Reactive oxygen species and mitochondrial diseases. *Cell & development Biology*, 2001: 12, 449-457.
40. Kaikobad Irani. Oxidant Signaling in Vascular Cell Growth, Death and Survival. *Circulation Research*. 2000;87:179.
41. M.G. Davies, Dr P. O. Hagen. Systemic Inflammatory Response Syndrome. *British Journal of Surgery*. 1997;84: p920-935.