

# El óxido nítrico

## como marcador de trauma abdominal sin lesión intraabdominal

*Nitric oxide as a marker of blunt trauma without intraabdominal damage*

Cano J, Al Awad A, Prado A, Cano C, Guerra E, Parra B, Baena S, Sánchez S, Ortega C.  
joserafaelp@gmail.com

Recibido: 20/10/2013

Aceptado: 21/11/2013

### Resumen

**Introducción:** El Trauma tiene una importante respuesta fisiológica en casi todos los sistemas y órganos. La inducción de la óxido nítrico sintasa debido al trauma por pérdidas sanguíneas importantes podría tener resultados devastadores durante estas condiciones pero diversas investigaciones han determinado que existe vasoconstricción y no vasodilatación en estos estados críticos. La razón de esta inhibición es desconocida. Nuestro objetivo es determinar el comportamiento de diferentes mediadores de la respuesta inflamatoria por trauma. El Óxido Nítrico (NO), Malondialdehído (MDA) y la proteína C reactiva.

**Métodos:** Se trata de un estudio prospectivo observacional que se llevo a cabo entre Diciembre del 2008 a Julio del 2009. Se estudiaron 19 pacientes con una edad media de  $25,3 \pm 2,1$  con trauma abdominal sin evidencia clínica de trauma intraabdominal. Los pacientes se abordaron en la Emergencia de Adultos del Hospital Universitario de Maracaibo-Venezuela. Muestras de sangre fueron tomadas inmediatamente a su llegada. Se determinaron ON/MDA y proteína C para luego compararlos con el grupo control sano.

**Resultados:** EL Óxido Nítrico esta significativamente elevado en los pacientes con trauma cuando se compararon con el grupo control ( $24,7 \pm 5,1$  vs  $20 \pm 3,3$   $p > 0,02$ ). No existió cambios en el MDA y PCR en pacientes con trauma cuando se compararon con el grupo control. ( $1,5 \pm 0,1$  vs  $1,3 \pm 0,4$ ;  $p > 0,26$ ).

**Conclusiones:** Nuestra investigación demostró que niveles elevados de ON sin aumento del MDA y PCR sugieren la existencia de trauma abdominal sin lesión intraabdominal. La necesidad de aumentar el grupo de estudio que incluya lesión intraabdominal por trauma es un importante paso para determinar el comportamiento de la respuesta inflamatoria en el trauma.

**Palabras Claves:** Trauma Abdominal Cerrado, Óxido Nítrico, Malondialdehído (MDA) proteína C reactiva

### Abstract

**Introduction:** Trauma has an important physiologic response in almost every single organ and system.. Nitric oxide sintasa induction do to Trauma and important bleeding could have a devastating consequence however during these conditions research has showed vasoconstriction and not vasodilatation. The reason of this inhibition is unknown. Our goal was to determine the Behavior of important mediators in the inflammatory response do to trauma; Nitric Oxide (NO), Malondialdehyde (MDA) and C Reactive Protein.

**Methods:** This was a prospective observational study undertaken between January 2009 and December 2009. 19 Patients with a mean age mean age of  $25,3 \pm 2,1$  with blunt trauma without clinical evidence of intraabodminal injurie were managed at the Adult emergency trauma area of the University Hospital of Maracaibo-Venezuela. Blood samples were withdrawn immediately to their admission. ON/MDA and C reactive protein were determine to later compare results with control healthy group.

**Results:** NO was significantly increased in trauma patient when compared with control group ( $24,7 \pm 5,1$  vs  $20 \pm 3,3$   $p > 0,02$ ) No changes were observed in MDA and PCR in Trauma patients when compare with control group ( $1,5 \pm 0,1$  vs  $1,3 \pm 0,4$ ;  $p > 0,26$ ).

**Conclutions:** Our research showed that elevated NO with out an increase of MDA and CRP suggest blunt trauma without intraabdominal injurie. The need to have a larger study group that include intraabdominal injury do to blunt trauma is an important step to determine inflammatory behavior in trauma.

**Key Words:** Closed Abdominal Trauma, Nitric Oxide (NO) Malondialdehyde (MDA)

Durante el trauma, la respuesta inducida por stress posee una gran cantidad de mediadores que son liberados posterior a la injuria teniendo efectos tanto locales como sistémicos en donde uno de sus principales protagonistas es el Óxido Nítrico (ON) y los radicales libres, quienes producen una reacción en cadena teniendo como producto final la respuesta inflamatoria sistémica y sus principales complicaciones, la Acidosis, la hipotermia y la coagulopatía, siendo estas principales causas de muerte en un paciente producto de un trauma.

El principal mecanismo de protección ante esta respuesta, teniendo en cuenta que muchos de estos mediadores son liberados como resultado de la reperfusión es el sistema antioxidante que muchas veces se encuentra limitado por la respuesta exagerada de los mediadores sistémicos ante la lesión producto del trauma.

La ruptura del balance oxidación/antioxidación en el organismo, es una condición en la cual las defensas antioxidantes celulares son inadecuadas para degradar completamente las sustancias oxidantes generadas -especies reactivas del oxígeno (ERO) y del nitrógeno (ERN), debido a una excesiva producción de ERO y ERN, a la pérdida de defensas antioxidantes o ambas, lo que ocasiona daño a las proteínas, ácidos nucleicos y a los lípidos insaturados, pudiendo comprometer la salud y viabilidad celular. Además puede originar una gran variedad de respuestas celulares que implican la generación de otras especies reactivas secundarias que en último caso conducen a la muerte celular por necrosis o apoptosis<sup>1,2</sup>.

Las sustancias oxidantes en los organismos vivos pueden provenir de una gran variedad de fuentes tanto endógenas como exógenas. Las fuentes exógenas incluyen la contaminación ambiental, los gases naturales deletéreos como el oxígeno hiperbárico, los efectos de la radiación ionizante y no ionizante, químicos, toxinas, bacterias patógenas y virus. Las fuentes endógenas incluyen reacciones y enzimas que pueden producir de forma directa o indirecta ERO y ERN, tales como la reacción de Fenton, la xantina oxidasa, la sintetasa del óxido nítrico y los neutrófilos<sup>3,4</sup>.

El estrés oxidativo de los organismos vivos puede ser evaluado mediante la utilización de marcadores biológicos; los cuales se definen como características que pueden ser medidas y valoradas de forma objetiva como indicadores de los procesos biológicos normales, de los procesos patogénicos o de las respuestas farmacológicas a un tratamiento terapéutico. El estrés oxidativo puede ser evaluado a través de la determinación de la peroxidación lipídica y de la capacidad antioxidante. La primera implica, la valoración plasmática de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico como el Malondialdehído (MDA), la medición de alcanos exhalados (etano, propano y metano) y la oxidación del plasma (oxidación de la lipoproteína de baja densidad). La segunda está relacionada con la determinación de las enzimas y moléculas antioxidan-

tes entre las cuales podemos mencionar al ácido úrico<sup>1-5</sup>.

Hasta hace algunos años la investigación clínica en el área de peroxidación lipídica, había estado en desventaja debido a la falta de marcadores biológicos válidos. En la actualidad uno de los marcadores utilizado con mayor frecuencia es el MDA plasmático, el cual se forma principalmente por la descomposición de los peróxidos de los ácidos grasos con tres o más dobles enlaces. Sin embargo su adecuada utilización requiere de intervalos de referencia que sean confiables provenientes de una población humana no seleccionada y que tome en consideración la influencia de la edad y el sexo, así como también otras variaciones específicas de la población<sup>5</sup>. La mayor parte de los valores de referencia para MDA si bien se han diferenciado por edad y sexo provienen de grupos de donantes seleccionados<sup>6</sup>.

Por otra parte el NO, considerado como un radical libre inestable; juega un importante papel en la regulación de la peroxidación lipídica inducida por los ERO ( $O_2^-$ , OH,  $H_2O_2$  y el radical peróxilo). El NO en algunos casos estimula la oxidación lipídica y en otros puede actuar como mediador de las reacciones que protegen las membranas de la oxidación, al inhibir la peroxidación lipídica inducida por el superóxido y peroxinitrito. El NO promueve la oxidación cuando su tasa de síntesis es menor o equivalente a la tasa de síntesis del ión radical superóxido; por el contrario cuando su tasa de síntesis es mayor a la del superóxido inhibe la peroxidación lipídica y por lo tanto la formación de MDA. Esta última reacción requiere una síntesis elevada de NO. El NO puede actuar de forma similar a la Vit E, como un posible inhibidor de las reacciones de propagación de radicales libres a través de una reacción radical-radical con especies citotóxicas como los radicales alcóxilo y peróxilo.<sup>7</sup>

Si bien el MDA, NO están siendo utilizados cada vez con mayor frecuencia como marcadores biológicos confiables del estrés oxidativo, estos no han sido suficientemente estudiados en pacientes traumatizados, existiendo información limitada en cuanto a los cambios que ocurren en estos parámetros relacionados al tipo de trauma y sus complicaciones; por esta razón el propósito del presente estudio preliminar, fue describir el comportamiento de algunos marcadores de oxidación biológica en los pacientes que acudieron producto de un trauma generalizado a este centro Hospitalario para luego comparar los resultados con grupo control sano y otros marcadores inflamatorios (proteína reactiva).

## Materiales y métodos

Este trabajo es de tipo descriptivo-correlacional, prospectivo y longitudinal. Para esta investigación, la población a objeto de estudio estará conformada por todos los pacientes de 18 a 45 años de edad, de sexo masculino y femenino con diagnóstico de trauma generalizado. Se obtendrá un total de 40 pacientes que cumplan con los criterios de inclusión (tabla 1)

para su estudio en el lapso comprendido de Diciembre del 2008 a Julio del 2009.

**Tabla 1. Criterios de Inclusión**

Pacientes de 18 a 45 años de edad.
Ambos géneros
Cualquier procedencia y/u ocupación.
Pacientes con diagnóstico de trauma Abdominal Cerrado de Manejo Conservador
Pacientes con Glasgow de 15 pt

Se realizara el abordaje clásico para la atención de un paciente traumatizado, luego se basearán en un instrumento los datos pertinentes para el manejo del trauma abdominal cerrado, tomando en consideración aspectos generales y específicos como identificación, forma de lesión, signos y síntomas, manejo y conducta tomada, complicaciones y forma de egreso, para dar resultados y con ello establecer criterios específicos como también de exclusión (tabla 2) para luego proceder a la toma de muestra de sangre venosa para la determinación de malondialdehído (MDA), óxido nítrico (ON) y proteína c reactiva posteriormente se comparará con grupo control sano.

**Tabla 2. Criterios de Exclusión**

Pacientes mayores de 45 años de edad.
Pacientes con enfermedades sistémicas asociadas
Pacientes politraumatizados que ameriten intervención quirúrgica de ingreso del servicio de cirugía general u cualquier otra especialidad
Pacientes con Glasgow menor de 15 pts

Para la recolección de la muestra se elaboró una ficha o instrumento relacionado con la historia clínica del paciente el cual estará estructurado de la siguiente manera: datos generales, mecanismo de la lesión, tiempo transcurrido desde su accidente hasta su llegada a la emergencia, signos y síntomas a su ingreso, métodos diagnósticos de laboratorio y radiológicos. La determinación del malondialdehído se efectuara mediante la formación de derivados del ácido tiobarbitúrico<sup>8,9</sup>. El óxido nítrico se determinara mediante nitritos utilizando el ensayo de diazotización (reacción de Greiss), previa reducción de los nitros<sup>1-4</sup>. La proteína c reactiva se determinara a través del método

El análisis de datos se realizara a través de un programa estadístico computarizado el SPSS versión 11 y las medidas de tendencia central expresándose en cuadros y gráficos.

#### Analisis Estadístico

Se realizara a través de un programa estadisticocomputarizado el SPSS v.11 y las medidas de tendencia central expresándose en cuadros y gráficos.

## Resultados

El óxido nítrico estaba significativamente elevado en el paciente con trauma cuando fue comparado con el grupo control (24,7 5,1 vs 20 3,3 p 0,02). No hubo cambios significativos del MDA y PCR en pacientes con Trauma cuando se compararon con grupo control (1,5 0,1 vs 1,3 0,4 p 0,26). (Tabla 3).

**Tabla 3. Distribución del perfil Oxidativo en el paciente con Trauma y Grupo Control**

	Trauma			Grupo Control			p
	Promedio	DE	EE	Promedio	DE	EE	
Edad	25,3	9,1	2,1	22,7	5,3	1,2	0,28
MDA	1,5	0,6	0,1	1,3	0,4	0,1	0,26
NO	24,7	7,2	5,1	20,0	4,5	3,3	0,02 a
PCR	NEG			NEG			

P<0,02 (a)

## Discusion

Los cambios metabólicos que se presentan en forma secundaria a casi todos los tipos de lesión son considerados en conjunto como la respuesta metabólica al trauma<sup>1</sup>.

Los cambios en el organismo después de una lesión se pueden dividir grosso modo en: cambios del metabolismo de energía y sustratos, cambios del metabolismo de agua y electrolitos y cambios en el metabolismo local de la herida. En su mayor parte, los dos primeros son consecuencia de la actividad neuroendocrina sistémica, en tanto que el tercero es independiente del medio neuroendocrino sistémico<sup>1</sup>.

Las lesiones mayores, las cirugías o los accidentes, provocan respuestas metabólicas, hormonales y hemodinámicas. Estas respuestas están caracterizadas por alteración en el metabolismo de proteínas con balance nitrogenado negativo, hiperglucemia, retención de sodio. En la Respuesta metabólica existe un incremento en la lipólisis, además hay liberación de hormonas contrarreguladoras, síntesis hepática de numerosos factores de fase aguda y fiebre<sup>5,6,7,8,9</sup>.

Esta respuesta es activada por varios tipos de estímulos nociceptivos, por lesión de tejidos, por isquemia tisular y por la reperusión, así como por las alteraciones hemodinámicas que se presentan comúnmente en estos pacientes<sup>9</sup>. En este sentido cabe mencionar que el aporte de oxígeno a las células, movilizar sustratos de energía, mejorar el aporte de sustratos de importancia extrema al sitio de lesión (en especial glucosa, para cicatrización) y minimizar el dolor<sup>10</sup>.

La acetilcolina puede originar vasodilatación a través de la liberación de un factor relajante derivado del endotelio identificado como el óxido nítrico<sup>[11,12]</sup>.

Normalmente producido constitutivamente por las células endoteliales es un regulador homeostático de la presión

arterial que provee una vasodilatación progresiva. La inflamación produce un aumento del óxido nítrico de una gran variedad de células y que pueden contribuir a la profunda hipotensión típica en los pacientes descompensados por shock hemorrágico.

El óxido nítrico es un vasodilatador producido en condiciones fisiológicas normales por el endotelio vascular de todos los vasos sanguíneos. El estímulo primario para la producción de óxido nítrico, a través de la formación de la sintetasa de óxido nítrico, es con frecuencia el stress generado por la fuerza friccional secundaria al flujo de sangre a través de los vasos sanguíneos<sup>13</sup>. A través de un mecanismo establecido se producen de manera regular pequeñas concentraciones de óxido nítrico por las células endoteliales, neutrófilos y neuronas lo cual parece desempeñar un importante papel en el control local del flujo sanguíneo y de la presión arterial<sup>14</sup>.

Durante el ejercicio hay un incremento en la fuerza de bombeo del corazón y una redistribución del flujo sanguíneo que incrementa dicho flujo a través de los músculos esqueléticos y en la circulación coronaria. Estos ajustes proveen aumento del aporte de oxígeno para la producción aeróbica de energía y mantener la respuesta del organismo al ejercicio<sup>15</sup>.

El óxido nítrico tiene al menos tres funciones importantes reconocidas hasta la fecha:

- a. Es producido por los macrófagos para ayudar en la lisis bacteriana.
- b. Se produce en las células endoteliales como un efecto límbico de vasodilatación muscarínica.
- c. Se produce en las neuronas como un neurotransmisor excitatorio<sup>15</sup>.

El óxido nítrico también ayuda en la modulación de la respiración celular, en la proliferación celular y en la protección contra radicales libres de oxígeno. Toda la producción endógena de óxido nítrico proviene del metabolismo de la L-arginina por acción de la sintetasa de óxido nítrico, dando como productos terminales óxido nítrico y L-citulina<sup>15</sup>.

Se ha postulado que el estímulo séptico induce la producción de sintetasa de óxido nítrico en los tejidos vasculares y perivasculares, provocando una vasodilatación profunda que se acompaña de compromiso hemodinámico. En el traumatismo y la hemorragia con la disminución del volumen circulante, la inducción de la sintetasa de óxido nítrico puede tener una profunda y desastrosa consecuencia. Bajo estas condiciones se observa vasoconstricción y no vasodilatación. La supresión de este potente vasodilatador parece ser una respuesta adaptativa durante y después del trauma y la hemorragia<sup>15</sup>.

El mecanismo de inhibición de la producción de óxido nítrico en los pacientes traumatizados es desconocido. Es posible que la isquemia sea la responsable; ya que el oxígeno molecular es necesario para la producción del óxido nítrico. Es por

esto que este fenómeno no debería persistir después de la reanimación, sin embargo en estudios experimentales se ha demostrado que esto no ocurre. Estos resultados sustentan la hipótesis que el óxido nítrico es el responsable del mantenimiento del flujo sanguíneo a los órganos durante el choque por incremento de la vasodilatación y por inhibición de la agregación plaquetaria<sup>15</sup>.

La sintetasa de óxido nítrico es estimulada por productos bacterianos como endotoxinas, BCG, *Corinebacterium parvum*, o por estimulación por citocinas, como el interferón, la interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral<sup>15</sup>.

Estudios recientes indican que en los modelos de choque hemorrágico se presenta una elevación de la actividad de la sintetasa de óxido nítrico en los tejidos durante los estadios finales del choque, cuando el animal no responde en gran medida a los vasopresores. Cuando el óxido nítrico se produce en cantidades fisiológicas, parece que no juega un papel importante en la regulación del tono vascular, pero cuando se produce en exceso, como en los casos de sepsis o en la falla orgánica múltiple, puede causar hipotensión. Inhibidores del óxido nítrico han sido usados en animales y humanos para contrarrestar esta hipotensión. La importancia del uso de estos inhibidores, sin embargo, se centra en la hipótesis de que el óxido nítrico es más importante para regular el flujo local que el tono vascular sistémico debido a su efecto vasodilatador local y su efecto inhibitorio sobre las plaquetas<sup>15</sup>.

En vivo, el metabolismo de óxido nítrico da como resultado la formación de nitratos y nitritos; alteraciones en las concentraciones plasmáticas de estos productos terminales se han encontrado en las pacientes en estado crítico. Las observaciones iniciales incluyen elevados niveles de nitritos en pacientes sépticos, en quienes esta en relación directa con la elevación en el plasma de las endotoxinas y en relación inversa con la resistencia vascular sistémica. En los pacientes traumatizados se observó una concentración plasmática de nitrato por debajo de los niveles normales. Además, cuando los pacientes traumatizados entran en estado séptico aparentemente siguen siendo incapaces de aumentar la producción de óxido nítrico. La disponibilidad de sustrato no parece ser la causa de esta disminución de la producción. A pesar de que los niveles de L-arginina se encuentran disminuidos tanto en los pacientes traumatizados como en los pacientes sépticos no hay correlación con la disminución en los niveles plasmáticos de nitrato. Además, los niveles de L-citulina están disminuidos en ambos tipos de pacientes. Sin embargo, se ha comprobado que los niveles de nitratos en los pacientes traumatizados con infección aumentan cuando se les compara con los de pacientes traumatizados sin infección<sup>15</sup>.

Sin embargo en nuestra investigación conseguimos niveles elevados de óxido nítrico, al ser comparados con el grupo control apuntando hacia una respuesta inflamatoria aguda. Esta respuesta se puede explicar posiblemente a que los pacientes a pesar de haber sufrido trauma abdominal no existe daño de órganos nobles y por lo tanto no existe pérdida san-

guínea suficiente como para producir isquemia y así inhibir la óxido nítrico sintasa y por ende la producción de Óxido Nítrico a nivel endotelial. Al comparar los resultados de Proteína C reactiva con el grupo control no hay diferencia significativa a pesar de que existe una respuesta inflamatoria aguda corroborada por los elevados niveles de Óxido Nítrico. La necesidad de mayores grupos de estudio y la inclusión de pacientes con lesión de órganos intraabdominales por trauma serían de gran utilidad para determinar de forma indirecta a través del Óxido Nítrico lesión intraabdominal y de esta manera establecer el Óxido Nítrico como un importante factor pronóstico de lesión intraabdominal en el paciente con trauma.

## Conclusiones

Nuestra investigación demostró que niveles elevados de Óxido Nítrico sin elevación de Malondialdehído y proteína C reactiva sugiere trauma abdominal sin lesión de órganos intraabdominales. La necesidad de tener un grupo de estudio más grande que incluya pacientes con lesión de órganos intraabdominales por trauma abdominal es un importante paso para determinar el comportamiento de mediadores inflamatorios en el trauma.

## Referencias

1. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis [Review]. *Physiol Rev* 2004; 84:1381-478.
2. Granota E and Kohenb R. Oxidative stress in childhood in health and disease states [Review]. *Clinical Nutrition* 2004; 23: 3-11
3. Thérond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraulc A, Conti M and Alain Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Meta Care* 2000; 3:373
4. Sies H. Oxidative stress: oxidant and antioxidant. *Exp Physiol* 1997; 82:291-5.
5. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR and Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*. 1997; 43:1209-1214.
6. Chamorro A, Obach VO, Cervera A, Revilla M, Deulofeu R and Aponte JH. Prognostic significance of uric acid serum concentration in patients with acute ischemic stroke. *Stroke*. 2002; 33:1048-1052.
7. Sauaia A, Moore FA, Moore EE, Moser KS, Brennan R, Read RA, Pons PT: Epidemiology of trauma deaths: A reassessment. *J Trauma* 1995; 38: 185-93
1. Schwartz, Seymour I.; Principios de Cirugía. Respuestas endocrinas y metabólicas a la lesión; Editorial Interamericana; Quinta Edición; 1990; 1-59
2. Weissman, Charles: The metabolic response to stress: An overview and update; *Anesthesiology*: 1990; 73:308-327
3. Sabiston, David; Tratado de Patología Quirúrgica. Homeostasia: cambios corporales en traumatismos y cirugías; Editorial Interamericana McGraw-Hill; Decimotercera Edición: 1990; 24-39
4. Drost, Adriana C.; Plasma cytokines following thermal injury and

their relationship with patient mortality, burn size and time post-burn; *J. Trauma*; 1993; 35 (3): 335-339

5. Chiolero, R.; Consequences de l'acte operatoire sur l'etat nutritionnel; *Ann. Fr. Anesth. Reanim.*; 1995; 14 suppl 2; 39-46
6. Tyburski, J.; Regional differences in lymphocyte function following resuscitated hemorrhagic shock; *J. Trauma*; 1994; 37(3): 469-472
7. O'Sullivan, S.; Major injury leads to predominance of the T helper-2 lymphocyte phenotype and diminished interleukin-12 production associated with decreased resistance to infection; *Ann. Surg.*; 1995; 222(4) 482-490
8. Peitzman, A.; Hemorrhagic shock; *Curr. Probl. Surg.*; 1995; 32(11): 925-1002
9. Rossitti, S.; Regulation of vascular tone; *Can. J. Physiol. Pharmacol.*; 1995; 73(5): 544-550
10. Chang, H.; Plasma endothelin level changes during hemorrhagic shock; *J. Trauma*; 1993; 35(6): 825-833
11. Miller, R.; Antithrombin III and trauma patients: factors that determine low levels; *J. Trauma*; 1994; 37(3): 442-445
8. Watters, J.; Aging exaggerates glucose intolerance following injury; *J. Trauma*; 1994; 37(5): 786-79122. Watters, J.; Aging exaggerates glucose intolerance following injury; *J. Trauma*; 1994; 37(5): 786-791
9. Malarkey, W.; The dissociation of catecholamine and hypothalamic-pituitary-adrenal response to daily stressors using dexamethasone; *J. Clin. Endocrinol. Metab.*; 1995; 80(8): 2458-2464IQ