

Efectos del ácido ascórbico en un modelo experimental de peritonitis. Resultados preliminares

Drs. Jorge Rabat, Abel Jarjoour, Rogelio Arévalo, Reina Canónico

Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, Escuela de Medicina, Dpto de Cirugía.

RESUMEN

Se estudiaron los efectos del ácido ascórbico en la evolución clínica de las infecciones intraabdominales posoperatorias, en 60 ratas Sprague-Dawley machos en 2 series secuenciales de 6 grupos con 5 ratas c/u. A cinco grupos, elegidos y asignados al azar, se les provocó infección intraabdominal mediante un modelo de ligadura y punción de asa intestinal, y se establecieron esquemas con ácido ascórbico y sin éste solo o asociado a ampicilina-sulbactam sódica.

El peso promedio disminuyó en los grupos testigo, control y el tratado con 60 mg/kg/día de vitamina C; mientras que en los grupos con 90 mg/kg/día de vitamina C, antibiòticoterapia simple y terapia combinada a base de 60 mg/kg/día de vitamina C, más antibiòticoterapia, se apreció un discreto aumento de este parámetro. Estos cambios fueron estadísticamente significativos. No hubo cambios significativos en movilidad. El porcentaje y la probabilidad de supervivencia fue mayor en los grupos experimentales que en el grupo control. De los grupos experimentales, el esquema combinado de 60 mg/kg/día de vitamina C más antibiòtico, fue de mayor porcentaje y probabilidad de supervivencia, seguido por el grupo que recibió sólo vitamina C en dosis de 90 mg/kg/día. Los valores obtenidos fueron estadísticamente significativos. Las bacterias aisladas en la peritonitis que presentaron todos los grupos pertenecían al grupo de las enteropatógenas (*E. coli*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. penneri*, etc.). Los leucocitos predominantes fueron los polimorfonucleares. Los cambios histológicos en tejidos intestinal y de pared abdominal presentan una relación inversa entre el esquema de tratamiento, el grado de lesión tisular y la presencia de células leucocitarias.

Palabras clave: Ácido ascórbico. Peritonitis. Polimorfo-nuclear. Fagocitosis. Quimiotaxis. Respuesta inmunológica.

SUMMARY

The effects of ascorbic acid on the clinical evolution of postsurgical intra-abdominal infections were studied in 60 Sprague-Dawley male rats in 2 sequential series of 6 groups of 5 rats each. To 5 groups randomly selected, intra-abdominal infection was induced using a model of ligation and puncture of intestinal loop, and schemes with ascorbic acid with and without ampicillin-sulbactam.

Mean weight was reduced in control and treated group with 60 mg/kg/day vitamin C; while in groups treated with 90 mg/kg/day vitamin C, antibiotics only and combined treatment with 60 mg/kg/day of vitamin C, plus antibiotics, an increase of weight was observed. These changes were statistically significant. There were no changes in motility. The percentage and probability of survival was higher in the experimental groups than in the control group. From the experimental groups, the combination of 60 mg/kg/day of vitamin C plus antibiotics, presented the higher percentage and probability of survival, followed by the group that received only vitamin C at a dose of 90 mg/kg/day. Values obtained were statistically significant. The isolated bacteria in the peritonitis from all groups belong to the enteropathogen group (*E. coli*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. penneri*, etc.). Predominant leukocytes were polymorphonuclears. Histological changes in intestinal tissues and abdominal wall presented an inverse relationship between the treatment scheme, and degree of tissular lesion and presence of leukocytes

Keywords: Ascorbic acid. Peritonitis. Polymorphonuclear. Phagocytosis. chemotaxis. Immunological response.

INTRODUCCIÓN

Dentro del ámbito de la cirugía, en aquellas intervenciones que requieren o provocan la exposición del contenido abdominal, la infección intraabdominal siempre constituye un fantasma.

Esta patología usualmente puede ocurrir dentro de la cavidad peritoneal o confinarse al espacio retroperitoneal. Las infecciones pueden presentarse localizadas, en forma de abscesos únicos o múltiples, o más bien difusas, como en la peritonitis generalizada (1-3).

Debido a su complejidad y forma, el espacio peritoneal provee muchas áreas aisladas, en el que fluidos contaminados pueden establecer una infección discreta, y muchos pasadizos a través de los cuales estos pueden migrar desde el sitio inicial de contaminación. También pueden invadir vísceras sólidas como hígado, riñón, bazo, etc., o alojarse en la vecindad, como por ejemplo, en la pericolicitis (1-3).

Dependiendo de la causa específica que la produce, la peritonitis puede ser primaria o secundaria, según si el foco de origen se encuentra fuera de la cavidad peritoneal o dentro de ella.

La peritonitis bacteriana secundaria es una inflamación supurativa aguda peritoneal originada por una enfermedad primaria de las vísceras abdominales, un traumatismo contuso o penetrante o de operaciones en los espacios peritoneales (4).

Las infecciones de origen secundario son polimicrobianas y entre estas bacterias existe un sinergismo. La etapa temprana (antes del quinto día), está generada predominantemente por los microorganismos aerobios como *E.coli* y luego se continúa con una fase tardía (después de 5 días), cuyos responsables son los anaerobios, entre ellos: *Bacteroides fragilis* (1,2).

Las defensas inmunológicas del peritoneo, su competencia en desalojar las bacterias por el drenaje linfático, vía diafragmática, y la capacidad de localizar la infección son normalmente eficientes. Uno de los mecanismos que contribuyen a la infección es el bloqueo de la absorción linfática normal de las bacterias. También existen sustancias coadyuvantes en la instalación de la infección, tales como: talco, mucina, turpentina, bario, heces, bilis y sangre. Además, el incremento en el volumen del fluido en la cavidad abdominal diluye las proteínas

opsónicas, y empeora la función antibacteriana (1,3).

La mortalidad por peritonitis generalizada, sin tratamiento, varía entre el 80% y el 100%. El uso de antibioticoterapia la reduce hasta un 65%, pero la falla multisistémica puede elevarla hasta el 90% (1,2).

Existen diversos factores influyentes sobre la sobrevida de estos pacientes, entre ellos: edad, magnitud de la inoculación bacteriana, duración de la contaminación peritoneal, condición médica preexistente y el área del tracto gastrointestinal responsable (1,3).

El manejo es complejo y, por lo general, se requiere de tratamiento quirúrgico, coadyuvado por la terapia médico-farmacológica. La cirugía se fundamenta en la corrección del proceso o lesión que originó la peritonitis y el drenaje de la cavidad. Cuando se trata de colecciones bien localizadas, o si las condiciones del paciente son precarias para tolerar una cirugía abierta, se realiza el drenaje tipo percutáneo. El tratamiento médico-farmacológico, incluye la utilización de antimicrobianos, a fin de combatir la contaminación polimicrobiana que incluye bacterias aerobias y anaerobias. Este se puede indicar como monoterapia o combinación de antibióticos y recordar que debe tomarse la mayor cobertura. Recientemente, se ha preconizado en algunos casos, el llamado manejo abierto o semiabierto de la cavidad peritoneal (1,2).

Además de todas estas medidas específicas existen también medidas generales como lo son: la hidratación, el uso de expansores plasmáticos, apoyo nutricional con la administración de aminoácidos, carbohidratos, lípidos, oligoelementos, vitaminas como el ácido fólico, cianocobalamina, ácido ascórbico (AA), etc., para tratar de disminuir los efectos negativos del catabolismo, producto del proceso infeccioso. En la actualidad, se está apoyando el uso de sustancias que estimulen el sistema de defensa del organismo y entre éstas tenemos la vitamina C o ácido ascórbico (3,4).

El AA, una vitamina hidrosoluble, es la lactosa del ácido 2,3 dienol-gulónico. Tiene una estructura similar a una azúcar hexosa, al cual se le anexa una estructura enodiol en los carbonos 2 y 3 (5).

La vitamina C fue aislada, por primera vez en forma pura y cristalizada a partir del jugo de limón, por los bioquímicos CG King y WA Waugh, en 1932. Esta sustancia no se biosintetiza en insectos, invertebrados, peces, primates, incluyendo el hom-

bre, debido a un defecto común, la ausencia de la enzima L-gulono oxidasa. Es absorbida pasivamente a través de la membrana de la mucosa bucal humana. La rapidez de su absorción depende del tiempo de contacto con la mucosa y el pH bucal.

Se acumula en varios tejidos tales como glándula adrenal, glándula pineal, lentes oculares y leucocitos. El transporte hacia el interior de la células cortico-adrenales se lleva a cabo por medio de un mecanismo activo, estereoselectivo, saturable, dependiente de temperatura, sodio, calcio y potasio. Por su parte, en las células blancas se realiza por difusión facilitada conjuntamente con la glucosa por lo que en individuos con alteraciones, como la diabetes mellitus, la concentración de la primera está disminuida (5,8).

El grupo dienol de la estructura química le otorga el carácter ácido a la molécula. Además tiene una característica particularmente importante, que puede ser oxidado, lo cual le confiere un considerable poder reductor. Esto sugiere que puede funcionar como un transportador intermediario de hidrógeno (9). En medios acusos, a pH por encima de 7,0 y presencia de aire u oxígeno, ocurre una autooxidación que produce el derivado deshidroascorbato y peróxido de hidrógeno, mientras que a pH debajo de 7,0, la oxidación se genera sólo en presencia del iones de cobre y plata, ocurriendo ésta más rápidamente (9).

Se han determinado ciertos efectos del ácido ascórbico, como por ejemplo: interviene en la prevención de la aparición del escorbuto y de la fragilidad capilar. Asimismo, se ha observado que actúa en la hidroxilación de la hidroxiprolina a prolina, en los fibroblastos del tejido conectivo, lo cual es útil para acelerar el cierre de las heridas. Con relación a los estados atópicos, algunos investigadores han demostrado que esta sustancia está implicada en la reacción antígeno-anticuerpo y la respuesta de los leucocitos a la liberación de mediadores, como la histamina (10).

También se han publicado investigaciones concernientes a su acción sobre las infecciones, explicadas por los siguientes hechos: 1. Inhibición del crecimiento de bacterias anaerobias; en medios con potenciales de óxido reducción alterados tendientes hacia la positividad (+60-100mV) y en ausencia de oxígeno se puede inducir el desarrollo de ellas. El AA posee un potencial negativo alto (-195 mV), atribuido al grupo dienol, por lo que en presencia de este elemento no ocurre crecimiento; y 2. Efectos bactericida y bacteriostático: se ha

determinado que actuaba por tres vías: a. sobre los organismos acidofóbicos, mediante incremento de la acidez del medio; b. sobre los organismos aeróbicos, por disminución del potencial de oxidoreducción, particularmente en el medio líquido; y c. al ocurrir la oxidación, formándose peróxido de hidrógeno (9).

Algunos estudios refieren la controversia con respecto de la forma cómo la vitamina influye sobre la vía glucolítica, por alteración del ciclo de la hexosa monofosfato (11). También se ha demostrado que la actividad de otras enzimas, tales como la mieloperoxidasa y la glutatión-reductasa, se alteran por la deficiencia del ascorbato (12). En relación con la adenosinfosfatooxidasa (NADPHoxidasa) y la fosfatasa ácida, se ha observado que su actividad está disminuida en los polimorfonucleares de animales con deficiencia de AA, lo cual significa que la actividad fagocitaria de estos, es significativamente menor (12).

Otros autores han demostrado que provoca la estimulación de la respuesta inmunológica del tipo celular, útil para las infecciones virales (13). Se ha hecho énfasis sobre efectos en la migración al azar y la respuesta quimiotáctica de leucocitos incubados en solución que contiene ascorbato, en la que se produce un aumento de la actividad antes mencionada, de cerca del 100% al 300% (14). Más aún, se ha observado que la vitamina puede estar relacionada con la resistencia a ciertas micosis, por ejemplo, la candidiasis se ha determinado que con niveles bajos, se incrementa la susceptibilidad a la infección micótica (15).

Más recientemente, se ha reconocido que las intervenciones quirúrgicas, especialmente la cirugía mayor, producen alteraciones en la respuesta de una de las primeras líneas celulares de defensas del organismo, el polimorfonuclear (PMNLs). Estos defectos se aprecian en su funcionalismo: quimiotaxis, contenido enzimático, fenómeno de respiración celular, generando así una predisposición a padecer algún tipo de infección. Esta activación alterada de los PMNLs se está utilizando, en la actualidad, como un marcador precoz del desarrollo de sepsis posquirúrgica (16).

Otros investigadores realizaron una evaluación de este fenómeno, denominado disfunción locomotora de los PMNLs, en personas que habían sufrido traumas contusos y se observó una reactivación con disminución de la capacidad reductora de las células, y se estimó que se debían a la autooxidación que

sufrían las ultraestructuras celulares inmersas en este fenómeno; dado esto, aplicaron una terapia con vitaminas antioxidantes entre ellas el ascorbato y experimentaron una mejoría significativa de la anormalidad sufrida por los PMNLs (17).

Por todos los argumentos antes mencionados y, dada la importancia que tienen actualmente las sustancias que actúan estimulando el sistema inmunológico, hemos decidido evaluar los efectos de la utilización de la vitamina C, como suplemento en diferentes esquemas de tratamiento en la evolución de la peritonitis experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para observar los efectos de la administración de AA, en la evolución clínica de las infecciones intraabdominales posoperatorias, se realizó un estudio de tipo experimental (ensayo terapéutico), mediante un modelo animal constituido por ratas machos de la cepa Sprague-Dawley. El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de la Sección de Farmacología de la Escuela de Medicina, de la Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, durante los meses de abril y mayo de 1994.

La muestra empleada estuvo constituida por 60 ratas obtenidas del Servicio de Bioterio del Instituto de Investigaciones Científicas (IVIC), con edades comprendidas entre las 8-10 semanas con un peso aproximado de 130-250 gramos. Los criterios de inclusión en el estudio se basaron en los establecidos para modelos experimentales, los cuales son: a. Las condiciones humanas pueden ser reproducidas en modelos con animales. b. El animal tiene un tracto gastrointestinal similar en cuanto a función y estructura (18).

En el desarrollo de la investigación, se instauraron en forma secuencial dos series de estudios compuestas cada una, por seis grupos de observación con cinco ratas por grupo.

Tomando como modelo el método de obstrucción intestinal descrito por Zapata-Silver y col. (19): a cinco grupos de cada serie se les provocó una infección intraabdominal al someterlos al siguiente procedimiento: bajo condiciones de asepsia y antisepsia, con anestesia a base de tiopental sódico

en dosis de 50 mg/kg se procedió, en forma estéril, a practicar una incisión media en la porción inferior del abdomen, previa preparación de la zona con bromuro de lauril dimetilbencil-amonio al 1,5%. Se visualizó el íleon terminal y mediante una perforación en su meso se procedió a la oclusión completa de su luz mediante la colocación de una sutura alrededor del asa con seda N° 3-0. El íleon se reintrodujo a la cavidad peritoneal y se finalizó con la síntesis de la pared en un solo plano también con seda N° 3-0.

El grupo restante de cada serie fue tomado como control de la técnica quirúrgica empleada, sometiéndolos sólo a la laparotomía sin ligadura de asa intestinal (grupo F).

Realizado el procedimiento quirúrgico, con una asignación por azar simple y en doble ciego (asignación conocida por el asesor, mas no por los evaluadores de los resultados), se formaron los seis grupos de cada serie bajo los siguientes esquemas de tratamiento:

Grupo A: infectado (ligadura y función de asa intestinal), sin tratamiento.

Grupo B: infectado más administración de vitamina C en dosis de 60 mg/kgp 1 dosis diaria. Vía intraperitoneal.

Grupo C: infectado más administración de vitamina C en dosis de 90 mg/Kgp. 1 dosis diaria. Vía intraperitoneal.

Grupo D: infectado más administración del antibiótico: ampicilina sódica/sulbactam sódico en dosis de 100 mg/kgp cada 12 horas. Vía intraperitoneal.

Grupo E: infectado más administración de vitamina C en dosis de 60 mg/kg 1 dosis/día y ampicilina sódica/sulbactam sódico en dosis de 100 mg/kgp día cada 12 horas. Vía intraperitoneal.

Grupo F: control: se les realizó laparotomía sin ligadura del asa intestinal.

La valoración de las condiciones clínicas de las ratas se efectuó cada 12 horas, suministrándoles alimento y agua *ad libitum*.

Para la recolección de datos, se diseñó un protocolo (Ver anexo) en el cual se registraron las siguientes variables:

Parámetros clínicos: peso en gramos, movilidad (B= espontánea, R= por estimulación y M= no respuesta) y el tiempo de sobrevida en intervalos de 24

horas. Estos datos se recolectaron diariamente.

Se tomaron, de cada grupo por azar simple, cuatro ratas al momento de hacer *exitus letalis* y se les realizó estudio al líquido peritoneal, determinándose celularidad por tinción Giemsa, para identificar tipo de bacteria. Además, se tomaron muestras de los siguientes órganos: hígado, riñón, bazo, intestino y pared abdominal, practicándoseles una evaluación histopatológica. El personal de laboratorio que procesó y evaluó las muestras remitidas ignoró, durante el estudio, a qué grupo pertenecían las mismas.

Los resultados de la investigación se presentan en cuadros de distribución de frecuencia, calculando para las variables, peso corporal, dos medidas de tendencia central como son: el promedio y la desviación estándar por intervalo de tiempo posoperatorio, intervalo de confianza (95%) y una prueba t-Student. En relación con el estudio de sobrevida además de emplear cálculos de frecuencia relativas, se estimó la probabilidad de sobrevida según el método de Kaplan-Meier (20), utilizado para muestras pequeñas y una prueba Chi cuadrado. La significancia estadística se consideró al nivel del 5% o $p < 0,05$. A los datos restantes se les determinó frecuencia relativa.

RESULTADOS

Con la reproducción de un modelo de infección intraabdominal posoperatoria, en el presente estudio se evaluaron parámetros clínicos, de laboratorio y estudios histopatológicos pos-mortem, de órganos pertenecientes a 6 grupos de ratas sometidas a diferentes esquemas terapéuticos para observar el efecto de la vitamina C en la evolución clínica de esta entidad nosológica.

Parámetros clínicos

Los parámetros clínicos estudiados fueron el peso corporal y la movilidad.

En cuanto al peso promedio de las ratas, se observó que disminuyó en las primeras 72 horas de la siguiente manera: 16 g para el grupo A y 22 g para el grupo F. En los grupos D y E, se apreció un incremento de 11,5 g y 12 g, respectivamente. En el grupo C, el peso promedio osciló en altibajos en un rango de 5 g durante toda la evolución del estudio (Cuadro 1).

Con respecto de la movilidad, todos los especímenes mantuvieron movimientos espontáneos hasta el momento de su muerte.

Cuadro 1

Valores promedio y desviación estándar del peso según intervalos de tiempo y esquema de tratamiento

Grupo de estudio	Horas															
	n	x	8	n	x	8	n	x	8	n	x	8	n	x	8	
A	10	186	22,89	8	175	21,21	8	171,25	20,27	5	168,00	21,35	3	173,33	9,42	
B	10	207	27,95	10	207	29,42	10	203,00	22,83	7	207,26	20,60	3	193,33	12,47	
C	10	205	22,91	10	208	26,74	10	205,00	27,66	5	210,00	8,94	3	210,00	7,07	
D	10	188	34,87	10	186	30,07	8	178,75	35,86	4	197,50	35,62	2	210,00	50,00	
E	10	172	34,00	10	186	35,27	8	181,25	24,21	7	184,29	26,65	5	192,00	33,11	
F	10	214	21,54	10	212	16,00	10	194,00	13,59	10	192,00	14,70	10	184,00	14,97	

n= número de animales vivos para la hora indicada.

8= división estándar.

x= valor promedio de peso.

Sobrevida

En lo concerniente a la sobrevida, se aprecia un aumento del tiempo de sobrevida en los grupos con terapéutica (de 120 h a 168 h), respecto del grupo control (96 h).

Dentro de los grupos con esquemas de tratamiento, el mayor porcentaje de tiempo de sobrevida fue para el grupo E, desde las 120 h a 144 h, un 20%; seguido por el grupo C, 10% en el mismo intervalo. Mientras el de menor porcentaje fue el grupo B, 0% desde las 96 h en adelante (Cuadro 2). Se pudo observar, en el cálculo de probabilidad de sobrevida en los diferentes grupos de estudio, lo siguiente: en el intervalo de 24 horas, los grupos B y C tuvieron mayor probabilidad (P= 1) con respecto de los grupos restantes. A las 48 h se apreció que el grupo E tuvo el mayor valor de probabilidad (P= 0,875) y el menor valor lo presentaron los grupos C y D. A las 72 h, el grupo C tuvo la mayor probabilidad (P= 0,8), mientras el grupo B tuvo la menor probabilidad (P= 0,6). A las 96 h, el grupo D obtuvo la máxima probabilidad (P= 1) y el grupo A tuvo la mínima probabilidad (P= 0). A las 120 h, la mayor probabilidad la obtuvo el grupo E (P= 0,667), mientras la menor fue para los grupos A y D (P= 0). A las 144 h, los grupos C y E presentaron la máxima probabilidad (P= 1), en tanto que los grupos restantes presentaron probabilidad igual a 0 (Cuadro 3).

Resultados del estudio de celularidad leucocitaria en el líquido peritoneal

La frecuencia de polimorfonucleares en este estudio fue mayor en los grupos A: 50% abundante

y 50% escasos; B: 75% moderados; C: 50% moderados y 50% escasos. El grupo D presentó en un 50% de las muestras, escasos polimorfonucleares y en el otro 50%, no se observaron células leucocitarias. En el 100% de las muestras del grupo E no se observaron polimorfonucleares (Cuadro 4).

Resultados de laboratorio de microbiología

En los estudios microbiológicos del líquido peritoneal, por medio de la coloración de Gram, se pudo

Cuadro 3

Probabilidad de sobrevida en intervalos de tiempo según esquema de tratamiento

Grupo de estudio	Horas							
	0	24	48	72	96	120	144	168
A	1	0,8	0,625	0,6	0			
B	1	1	0,7	0,428	0,667	0,5	0	
C	1	1	0,5	0,8	0,75	0,333	1	0
D	1	1	0,8	0,5	1	0		
E	1	0,8	0,875	0,714	0,6	0,667	1	0

Cuadro 2

Distribución de la sobrevida en intervalos de tiempo según esquema de tratamiento

Grupo de estudio	Horas							
	0	24	48	72	96	120	144	168
A	10 (100%)	8 (80%)	5 (50%)	3 (30%)	0			
B	10 (100%)	10 (100%)	7 (70%)	3 (30%)	2 (20%)	2 (20%)	0	
C	10 (100%)	10 (100%)	5 (50%)	4 (40%)	3 (30%)	1 (10%)	1 (10%)	0
D	10 (100%)	8 (80%)	2 (20%)	2 (20%)	2 (20%)	0		
E	10 (100%)	8 (80%)	7 (70%)	7 (70%)	3 (30%)	2 (20%)	2 (20%)	0
F	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)

Cuadro 4

Distribución de muestras de líquido peritoneal por grupo según celularidad leucocitaria

Grupo de estudio	Polimorfonucleares				Total*
	Ninguno	Escasos	Moderados	Abundantes	
A	-	2 (50%)	-	2 (50%)	4 (100%)
B	1 (25%)	-	3 (75%)	-	4 (100%)
C	-	2 (50%)	2 (50%)	-	4 (100%)
D	2 (50%)	2 (50%)	-	-	4 (100%)
E	4 (100%)	-	-	-	4 (100%)

(*) Método de tinción para polimorfonucleares.

(+) El porcentaje se calculó en función de N= 4 en cada grupo.

observar que en todos los grupos estudiados las bacterias predominantes fueron los bacilos Gram (-), específicamente en un 100% para los grupos A,B,D, y E, y un 75% en el C. Los cocos Gram (+) se determinaron en los grupos A y D en un 50% de las muestras, y en el B y C en un 25%. En una de las muestras del grupo D no se demostró bacterias (Cuadro 5).

En el cultivo bacteriológico de las muestras de líquido peritoneal, la especie bacteriana aislada en todos los casos siempre fue de tipo enteropatógena.

Cuadro 5

Distribución de muestras de líquido peritoneal por grupo según resultado de coloración de Gram

Grupo de estudio	Bacteria				Total*
	Ausente		Presente		
	Gram (+) Cocos	Bacilos	Gram (-) Cocos	Bacilos	
A	-	2 (50%)	-	4 (100%)	4 (100%)
B	-	1 (25%)	-	4 (100%)	4 (100%)
C	1 (25%)	1 (25%)	-	3 (75%)	4 (100%)
D	-	2 (50%)	-	4 (100%)	4 (100%)
E	-	-	-	4 (100%)	4 (100%)

(*)El porcentaje se calculó en base a N= 4 en cada grupo.

Entre las más comunes se encontraron *Proteus vulgaris* en 50% de los casos en el grupo F, 25% en grupos A,B y E; *P. mirabilis* en 50% del grupo B y C; con un 25% en grupo A y D, y *P. penneri* en 25%

en los grupos A,D y E. La *Escherichia coli* se encontró en un 75% de los casos del grupo B, en 50% de C, y 25% en A y E. Otras bacterias identificadas (25% de las muestras) fueron: *Enterobacter sp*, en grupo A, *Citrobacter freundii* en el grupo B; *Staphylococcus coagulasa* (-) en grupo D; *P. aeruginosa* en grupo E. En los grupos A y C no se pudo identificar la especie del microorganismo, por lo que se clasificó como germen no fermentador. En el cultivo de una de las muestras del grupo C, no creció bacteria (Cuadro 6).

Resultados del estudio histopatológico

En lo referente al estudio pos-mortem relacionado con las alteraciones histológicas de los órganos que fueron reportadas, se señala que:

1. En el tejido renal, la lesión predominante fue la congestión, apareciendo en un 100% en las muestras del grupo A y D, un 75% en B y un 50% en C y E. Otros hallazgos reportados en el grupo A fueron la presencia de mononucleares en un 50% y presencia de polimorfonucleares a nivel glomerular en un 75% de las muestras (Cuadro 7).
2. En el tejido hepático, la lesión reportada que más comúnmente se observó fue la congestión, el grupo A con 75% en B y C 50%; en D y E 25% en E. La presencia de polimorfonucleares se apreció en los grupos A y B; 75% en C y 50% en D. La presencia de mononucleares se dividió en un 75% de las muestras del grupo A y 25% en B y C (Cuadro 8).
3. En el tejido intestinal, las alteraciones principales observadas fueron la presencia de polimorfonucleares en la mucosa en un 50% en los grupos

EFECTOS DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

Cuadro 6

Distribución de muestras de líquido peritoneal por grupo según resultado* de cultivo

Grupo de estudio	Bacteria									
	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterobacter AP.</i>	<i>Citrobacter freundil</i>	<i>Staphilococcus coagulasa (-)</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Germen no fermentador	No bacteria
A	1 (25%)	1 (25%)	1 (25%)	1 (25%)	1 (25%)	-	-	-	1 (25%)	-
B	1 (25%)	2 (50%)	-	3 (75%)	-	1 (25%)	-	-	-	-
C	-	2 (50%)	-	2 (50%)	-	-	-	-	1 (25%)	1 (25%)
D	1 (25%)	1 (25%)	1 (25%)	-	-	-	1 (25%)	-	-	-
E	2 (50%)	-	1 (25%)	1 (25%)	-	-	-	1 (25%)	-	-

(*) El porcentaje se calculó en base a N= 4 en cada grupo.

Cuadro 7

Distribución de muestras* de tejido por grupo según tipo de alteraciones reportadas

Alteraciones	A	B	C	D	E
Congestión	4 (100%)	3 (75%)	2 (50%)	4 (100%)	2 (50%)
Presencia de mononucleares	2 (50%)	-	-	1 (25%)	1 (25%)
Presencia de polimorfonucleares	3 (75%)	-	-	-	-

(*)= el porcentaje se calculó en base a N= 4 en cada grupo.

Cuadro 8

Distribución de muestras* de tejido hepático por grupo según alteraciones reportadas

Alteraciones	A	B	C	D	E
Congestión	4 (100%)	3 (75%)	3 (75%)	2 (50%)	1 (25%)
Presencia de mononucleares	3 (75%)	1 (25%)	-	1 (25%)	-
Presencia de polimorfonucleares	1 (25%)	1 (25%)	3 (75%)	2 (50%)	-
Necrosis hepática centrolobulillar	-	1 (25%)	-	-	-
Hepatitis	-	1 (25%)	-	-	-

(*)= el porcentaje se calculó en base a N= 4 en cada grupo.

B, C y D y de 25% en E, y la presencia de polimorfonucleares en todas las capas en un 50% en A y 25% en B (Cuadro 9).

4. En el tejido esplénico, los cambios con mayor frecuencia observados fueron: congestión, 75% para los grupos A y D, 50% para E y 25% para B y C, y la presencia de polimorfonucleares subcapsulares se detectó en 75% para el grupo A y 25% para los grupos B, C y D (Cuadro 10).
5. En la pared abdominal, se notó que sólo el grupo A presentó colonias bacterianas difusas y polimorfonucleares abundantes en peritoneo; la presencia de polimorfonucleares escasos fue reportado en un 75% para el grupo D y en un 50% para B y E (Cuadro 11).

DISCUSIÓN

Un aspecto importante en el tratamiento de la

Cuadro 9

Distribución de muestras* de tejido intestinal por grupo según alteraciones reportadas

Alteraciones	A	B	C	D	E
Presencia de abscesos en capa mucosa-muscular	1 (25%)	-	-	-	-
Presencia de polimorfonucleares en todas las capas	2 (50%)	1 (25%)	-	-	-
Presencia de polimorfonucleares en capa muscular	-	1 (25%)	-	-	-
Presencia de polimorfonucleares en capa mucosa	-	2 (50%)	2 (50%)	2 (50%)	1 (25%)
Presencia de colonias bacterianas en capa serosa	1 (25%)	-	-	-	-
Autólisis	1 (25%)	-	-	-	-

(*)= el porcentaje se calculó en base a N= 4 en cada grupo.

Cuadro 10

Distribución de muestras* de tejido esplénico por grupo según alteraciones reportadas

Alteraciones	A	B	C	D	E
Congestión	3 (75%)	2 (50%)	1 (25%)	3 (75%)	2 (50%)
Autólisis	-	-	-	1 (25%)	-
Fibrosis capsular	2 (50%)	-	-	-	-
Presencia de polimorfonucleares supcapsular	3 (75%)	1 (25%)	1 (25%)	1 (25%)	-

(*)= el porcentaje se calculó en base a N= 4 en cada grupo.

Cuadro 11

Distribución de muestras* de tejido de pared abdominal por grupo según alteraciones reportadas

Alteraciones	A	B	C	D	E
Colonias bacterianas focalizadas	-	1 (25%)	-	-	-
Colonias bacterianas difusas	4 (100%)	-	-	-	-
Presencia de polimorfonucleares escasos de peritoneo	-	2 (50%)	-	3 (75%)	2 (50%)
Presencia de polimorfonucleares abundantes en peritoneo	4 (100%)	-	-	-	-

(*)= el porcentaje se calculó en base a N=4 en cada grupo.

peritonitis, además de la cirugía y la terapéutica antimicrobiana es la adición de sustancias que incrementen las defensas del hospedador y prevengan los procesos oxidativos demostrados en esta patología (21).

En los eventos sépticos como la peritonitis, existe un proceso catabólico importante en la cual se observa la disminución de diversas vitaminas y oligoelementos, y la formación de productos metabólicos derivados del oxígeno, tales como el superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidróxilos tóxicos, los cuales son lesivos a la membrana celular (21).

Las vitaminas, muchas veces olvidadas al administrar tratamiento a pacientes críticos, son importantes, porque intervienen como factores de los procesos biológicos del organismo. La vitamina C es un importante coadyuvante en la terapéutica de la infección intraabdominal, actúa como un potente antioxidante que evita la formación de radicales libres, los cuales limitarían la liberación de productos de la vía de la ciclooxigenasa, como interleuquinas, que intervienen en los procesos de quimiotaxis y fagocitosis de los polimorfonucleares. De allí, la importancia del estudio especialmente en la evolución clínica de los pacientes con esta entidad nosológica (22).

Una de las complicaciones más conocidas de esta patología es el desgaste corporal. El hipermetabolismo, el balance negativo de los elementos esenciales, alteraciones en la economía del agua y proteínas y la reducción o falta de ingestión de alimentos, contribuyen a la pérdida de peso corporal. Si es mínima, quizás no sea significativa para el paciente, pero si es severa y prolongada, la pérdida de masa protoplasmática obstaculiza mucho la respuesta del huésped a la infección (3). En nuestro estudio, se observó que la disminución de peso fue más marcada en los grupos que no recibieron terapia adyuvante, con una pérdida de aproximadamente un 10% en las primeras 72 horas, a diferencia de los grupos que recibieron esta terapéutica, en los cuales el peso se mantuvo estable o hubo un ligero aumento, lo cual fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

No se encontraron reportes de otras investigaciones en las que se estudiara la movilidad como parámetro clínico de la peritonitis en modelos experimentales. Sin embargo, en los pacientes con peritonitis secundaria, inicialmente están alertas e irritables, pero a medida que progresa la enfermedad se tornan quietos, obnubilados. En este ensayo, se

valoró esta variable de forma cualitativa y no se percibieron cambios significativos en los grupos observados, pues todos los animales presentaron movimientos espontáneos hasta el momento de su muerte (3).

En lo que se refiere a la sobrevida, se puede decir que es el parámetro más estudiado en relación con el efecto de la vitamina C. De las investigaciones publicadas, tenemos a las de Zapata-Silver y col. (21) quienes reportaron un incremento significativo, en los grupos experimentales que recibieron AA en dosis de 30 y 60 mg/kgp/día, posterior a la ligadura y punción cecal al ser comparadas con el grupo control, el cual sólo recibió solución salina normal. En este trabajo, se utilizaron dosis de 60 mg/kgp/día (grupo B) y 90 mg/kgp/día (grupo C), además se combinó ampicilina sódica/sulbactam sódico 100 mg/kgp/día cada 12 h, junto con AA en dosis de 60 mg/kgp/día. Se apreció un incremento, estadísticamente significativo, en la sobrevida de los grupos con esquemas de tratamientos respecto del grupo control. En lo concerniente a los grupos de tratamiento simple con ascorbato a las dosis empleadas, se puede apreciar que con la dosis más alta existe una mayor probabilidad de sobrevida respecto del tiempo, comparable ésta sólo con el grupo de terapia combinada. El grupo con mayor probabilidad de sobrevida respecto del tiempo, fue el que recibió la combinación terapéutica, seguido del grupo con esquema basado en vitamina C a una dosis de 90 mg/kgp/día, cambios estos estadísticamente significativos. Estas diferencias pudieran ser debidas a un efecto beneficioso, como coadyuvante, en el tratamiento de este tipo de infección, mediante un efecto antioxidante, inhibición de la acción perjudicial de los radicales libres, elevación de la respuesta inmunológica, al estimularse procesos tales como la quimiotaxis, fagocitosis y mejoramiento en la liberación de los gránulos en los polimorfonucleares, que conduce a una mejor eliminación de las bacterias a nivel peritoneal (21). Aunado a esto, se debe tomar en cuenta el efecto bactericida del antibiótico (ampicilina sódica/sulbactam sódico), sobre los entero-patógenos de la flora colónica.

Es bien conocido que, dentro del tracto digestivo, está presente una flora microbiana propia, la cual está bajo el control de los diferentes mecanismos de defensa del organismo. Estos microorganismos están distribuidos en diferentes proporciones a través de todo el tubo. En el colon, las bacterias anaerobias y las aerobias Gram negativas no espirogénicas,

comprenden la mayor parte del universo bacteriano. Al ocurrir una transgresión de las barreras defensivas, los microorganismos se desbordan al peritoneo, se dispersan por todos los sistemas y órganos, por vía hematogena o linfática, llegando inclusive a producir una sepsis como último paso en la evolución natural de la enfermedad (3). Los resultados obtenidos en esta investigación confirman lo antes expuesto. En los grupos experimentales, el tipo de bacteria identificada por la coloración de Gram que predominó en el mayor porcentaje, fueron los bacilos Gram (-), seguido por los cocos Gram (+). Las especies aisladas en las muestras del líquido peritoneal fueron enteropatógenas, y las de mayor frecuencia: *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis* y *P. penneri*. Estos hallazgos son similares a los reportados por otros autores (23,24). Es importante hacer notar que en los grupos A y C, no se pudo identificar la especie aislada del cultivo. Además, en una de las muestras del grupo C no creció bacteria alguna. Por problemas técnicos en este estudio se realizó cultivo de anaerobios, sin embargo, se sabe que en los procesos infecciosos que tienen punto de partida intestinal, estas bacterias están presentes, ejerciendo sinergia conjuntamente con las aerobias, así lo demuestran trabajos realizados por Onderdork y col. (25).

En estados de estrés como el trauma y la cirugía mayor, el organismo entra en una fase de inmunosupresión. Sin embargo, con algunas excepciones, no se ha encontrado que la hiporreactividad de las células blancas tenga alguna correlación clínica con infección en el posoperatorio. En lo referente a la inmunosupresión de los polimorfonucleares, aun cuando no se ha establecido correlación entre el deterioro de la quimiotaxis neutrofílica y otros defectos y el subsecuente desarrollo de complicaciones sépticas, se ha observado, *in vitro*, que la actividad funcional de los polimorfonucleares está suprimida (26). Respecto de nuestra experiencia, es notable la apreciación de que en todas las muestras de líquido peritoneal remitidas, la presencia de polimorfonucleares fue del 100% en el grupo A y C, 75% en B, 50% en D y sin presencia de estos en E. Ello se podría traducir como mejoría clínica alcanzada con la terapéutica con vitamina C en dosis de 90 mg/kg (grupo D), y más aún con la terapia combinada de ampicilina sódica/sulbactam sódico más vitamina C a 60 mg/kg/día. Lamentablemente, no existen informes sobre investigaciones similares para poder realizar comparaciones.

En el año 1989, Zapata-Silvert y col. (19) demostraron las alteraciones histológicas en tejido intestinal a diferentes intervalos, luego de producirse una obstrucción intestinal en ratas, observándose cambios progresivos desde edema, congestión e infiltrado inflamatorio en pared desde leve, moderado o severo, hasta la fragmentación de la mucosa, presencia de bacterias en lámina propia y necrosis. En nuestra experiencia, las alteraciones reportadas en los órganos seleccionados pos-mortem reflejan los diferentes grados de cambios inflamatorios, como se observó en el tejido de pared abdominal, donde se reportaron colonias bacterianas difusas en el grupo A y localizadas en el B; presencia de polimorfonucleares abundantes sólo en A y escasos en B, D y E mas no se constató en el grupo C, lo cual se corrobora o concuerda con los resultados del estudio de celularidad leucocitaria en líquido peritoneal. En el tejido intestinal, la alteración fundamentalmente reportada fue la presencia de polimorfonucleares en capa mucosa en los grupos C,D y E; en capas mucosas y muscular, especialmente, en los grupos B y en todas las capas en los grupos A y B.

En el tejido renal, la alteración fundamental en todos los grupos fue la congestión, y la presencia de mononucleares en un 50% para el grupo A y 25% en el D y E. En el tejido hepático, también la congestión en un 100% en el grupo A, 75% en B y C, 50% en D y 25% en E; en un caso (25%) se determinó necrosis hepática centrolobulillar, que pensamos sea a causa del anestésico utilizado. En el tejido esplénico, la congestión se observó en todos los grupos, igual que la presencia de polimorfonucleares subcapsulares, a excepción del grupo E. Lamentablemente, no se encontró información sobre estudios de estos tejidos que nos permitan realizar alguna comparación. Así, creemos que los diferentes resultados obtenidos en los grupos de estudio se deben a la terapéutica empleada o administrada en cada uno de ellos.

REFERENCIAS

1. Lopez JI. Infección intraabdominal. GEN 1992;46(2):43-48.
2. Malangoni MA. Pathogenesis and treatment of intraabdominal infection. Surg Gynecol Obstet 1991;171:31-35.
3. Ahrenholz DH, Simmons RL. Peritonitis y otras infecciones intraabdominales. En: Howard RJ, Simmons RL, editores. Tratado de infecciones en cirugía. 2ª

EFECTOS DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

- edición. México: Interamericana Mc Graw-Hill; 1991:649.
4. Wilson SE. Peritonitis bacteriana secundaria. En: Wilson SE, Finegold SM, Williams RA, editores. Infecciones intraabdominales. Diagnóstico y tratamiento. México: Mc Graw Hill; 1987.
 5. Lehninger AL. Vitaminas y coenzimas En: Lehninger AL, editor. Bioquímica. 2ª edición. España: Ediciones Omega; 1978:357-358.
 6. Cahtterjee IB, Majumder AK, Nandi BK, Subramanian N. Synthesis and some major functions of vitamin C in animals. *Ann N Y Ac Sc* 1975;258:24-47.
 7. Wilson CW. Clinical pharmacological aspects of ascorbic acid. *Ann N Y Ac Sc* 1975;258:335-376.
 8. Moser U. Uptake of ascorbic acid by leukocytes. *Ann NY Ac SC* 1987;498:200-215.
 9. Eddy BP, Ingram M. Interactions between ascorbic acid and bacteria. *J Nutr* 1958;88:93-107.
 10. Irwin I, Hutchins B. A conspectus of research on vitamin C requirements of man. *J Nutr* 1976;106(6)(suppl);235-795.
 11. Shilotri PG. Glycolitic, hexose monophosphate shunt and bacterial activities of leucocytes in ascorbic acid deficient guinea pigs. *J Nutr* 1977;107:1507-1512.
 12. Shilotri PG. Phagocytosis and leucocytes enzymes in ascorbic acid deficient quinea pigs. *J Nutr* 1977;107:1513-1516.
 13. Siegel BV, Morton JJ. Vitamin C and the immune response. *Experimentia* 1977;33:393-395.
 14. Goetz E, Wesserman S. Enhancement of random migration and chemotactic response of human leukocytes by ascorbic acid. *J Clin Invest* 1974;53:813-819.
 15. Rogers TJ, Adams-Burton K. Dietary ascorbic acid and resistance to experimental renal candidiasis. *J Nutr* 1983;113:178-183.
 16. Wakerfield Ch, Deckan C. Polymorphonuclear leukocytes activation. An early marker of the postsurgical sepsis response. *Arch Surg* 1993;128:390-395.
 17. Maderazo E, Woronick Ch. A randomized trial of replacement for neutrophils locomotory dysfunction in blunt trauma. *J Trauma* 1991;31(8):1142-1150.
 18. Cheville N. Criteria for development of animal model of diseases of the gastrointestinal system. *Am J Pathol* 1980;101(suppl 3):675-765.
 19. Zapata-Silvent R, Larroca A, Piñate Antequera R, González RC, Del Médico P, et al. Factores involucrados en la translocación bacteriana en un modelo experimental de obstrucción intestinal. *GEN* 1989;43(3):185-193.
 20. Jenicek M, Cleroux R. Epidemiología, principios técnicas, aplicaciones. 1ª edición. Barcelona: Salvat Editores; 1987:393.
 21. Zapata-Silvent R, Larroca A, Marzullo V, Antequera R, Cerda J, Martinelli A, Pifano E. Efecto del ácido ascórbico en un modelo experimental de sepsis de origen abdominal. *Arch Venez Farm Ter* 1988;7(3):185-189.
 22. De HF, Webster NR. Free radicals and antioxidants in sepsis. *Crit Care Med* 1993;21(11):1770-1776.
 24. Zapata-Silvent RL, Marzullo V, Piñate S, Del Médico P, Urbina A, Larroca A, et al. Translocación bacteriana en un modelo de obstrucción intestinal. II. Estudio bacteriológico y papel de la inmunidad celular. *GEN* 1991;45(4):273-280.
 25. Onderdonk AB, Bartlett JG, Loui T, Sullivan-Seigler N, Gorbarch SL. Microbial synergy in experimental intra-abdominal abscess. *Infect Immun* 1975;13(1):22-26.
 26. Guillou J. Biological variation in the development of sepsis after surgery or trauma. *Lancet* 1993;342:217-220.