

Efecto de la Vitamina C sobre la Supervivencia de Ratones en un Modelo de Sepsis Abdominal

Dr. Enrique Montbrun -1
Dr. Ricardo Pereiro -2
Dr. Rafael Antequera -3
Dr. Antonio Nastasi -4
Dr. Javier Barbeito -4
Dr. Luis Báez -5

RESUMEN

Se desarrolla un modelo de sepsis experimental con 180 ratones cepa Balb-C a fin de demostrar el efecto producido por la Vitamina C en la supervivencia de ratones a los cuales se le provocó sepsi abdominal y si la localización del foco infeccioso influye en el efecto producido por la administración de la misma. Se demostró que la Vitamina C mejora la supervivencia de ratones sépticos y que la localización del foco infeccioso influye en ese efecto. Los ratones cuyo foco infeccioso se provocó a nivel del colon derecho mostraron un índice de supervivencia significativamente mayor.

SUMMARY

We make an experimental sepsis model with 180 mices type Balb-C to demonstrate the effect of the Vitamin C in the survival of them and if the localization of the sepsis process is important in this effect. We are demonstrated that the Vitamin C improve the survival of the septic mices and the localization influence this effect. The mices with the septic process locate at right colon have the best survival rate.

Palabras Claves: Vitamina C. Sepsis Abdominal.
Modelo Animal de Sepsis.

INTRODUCCION

La sepsis abdominal continúa siendo un problema de importancia capital en el campo de la cirugía a pesar del descubrimiento de nuevos agentes antimicrobianos. Las evidencias obtenidas a través de numerosos estudios han demostrado que durante la sepsis hay un aumento de todos los procesos catabólicos, lo cual se traduce en la utilización elevada de todos los sustratos energéticos, trayendo como consecuencia el consumo de todos los componentes orgánicos, especialmente las vitaminas y los oligoelementos. Otros estudios han demostrado que la carencia parcial o total de un elemento nutricional conduce a un estado de inmunosupresión. Se ha demostrado que diferentes vitaminas y oligoelementos participan en el buen funcionamiento del sistema inmunológico. Los resultados de los estudios con Vitamina C han generado mucha controversia. Se ha discutido mucho acerca del papel de los altos niveles de Vitamina C encontrados a nivel de las células fagocitarias y su relación con la inmunosupresión. Desde el punto de vista inmunológico, la Vitamina C es vital para el desarrollo del tejido linfático. Se le asocia con la habilidad de los fagocitos para movilizarse al foco infeccioso, o sea, en los procesos de migración y quimiotaxis de los leucocitos. Algunos estudios sugieren que el Acido Ascórbico influencia la motilidad por efecto directo en la síntesis y ensamblaje de las estructuras microtubulares. También, se dice que la deficiencia de Vitamina C produce una reducción significativa de la población de células T y sus funciones. El objetivo del presente trabajo es establecer los efectos producidos por la Vitamina C en la supervivencia de ratones sometidos a un modelo de sepsis abdominal ex-

- 1- MASVC, MASILAC, Docente de Cátedra de Clínica Quirúrgica "B", Escuela de Medicina "J. M. Vargas", UCV, Adjunto del Servicio de Cirugía I, Hospital Vargas. Cirujano, Centro Médico de Caracas.
- 2- MASVC, Adjunto del Servicio de Cirugía I, Hospital Vargas.
- 3- Docente de Cátedra de Bioquímica, Escuela de Medicina "J. M. Vargas", UCV.
- 4- Residentes de Postgrado de Cirugía General, Servicio de Cirugía I, Hospital Vargas.
- 5- MASVC, Jefe de Cátedra de Clínica Quirúrgica "B", Escuela de Medicina "J. M. Vargas", UCV, Adjunto del Servicio de Cirugía I, Hospital Vargas.

EFFECTO DE LA VITAMINA C

perimental y si dicho efecto se verá modificado cuando se varía la localización del foco infeccioso que produce la sepsis en el modelo experimental.

MATERIALES Y METODOS

Para desarrollar la experiencia utilizamos 180 ratones machos cepa Balb-C de ocho semanas de edad y de 60 grs de peso promedio aproximadamente, mantenidos en condiciones apropiadas y con libre acceso al agua y a la comida. Se desarrolló un modelo experimental de sepsis abdominal (Baker y col.), modificado, el cual, se basa en lo siguiente:

1. Anestesia de los ratones con Tiopental sódico a dosis de 50 mg/kg de peso administrados por vía intraperitoneal.
2. Abordaje quirúrgico de la cavidad abdominal a través de una incisión en la parte media inferior del abdomen. Visualización del colon, exteriorización del mismo y una vez aislado el segmento: perforación del mismo en sus dos caras con una aguja calibre 21, dejando orificios visibles en ambas paredes.
3. Reintroducción del colon a la cavidad abdominal. Sutura de la pared en un solo plano con seda 3-0.

Los ratones fueron agrupados en cajas en número de 15 ratones con agua y comida ad-libitum. La mortalidad fue cuantificada a las 24, 48 y 168 horas de inducida la sepsis. La dosis a emplear de Vitamina C (ácido ascórbico Roche, ampollas de 500 mg) se calculó en base a la dosis estándar empleada para tal fin en seres humanos. Dicha dosis fue disuelta en solución salina y administrada por vía intraperitoneal a una dosis estándar de 60 mg/kg. Los ratones utilizados como control solo recibieron solución fisiológica en forma intraperitoneal. Se realizaron dos experiencias:

1.- Experiencia A

Se dividieron los ratones al azar en dos grupos de 30. El lote 1 se tomó como control y el lote 2 como experimental. Se desarrolla la sepsis abdominal utilizando el modelo experimental descrito. A los ratones pertenecientes al lote experimental, se le administró una dosis de Vitamina C al final del procedimiento quirúrgico. La vigilancia de los ratones fue diaria, cada doce horas.

2.- Experiencia B

Se dividieron los ratones al azar en cuatro grupos de 30. Los lotes 1 y 2 se tomaron como control de colon derecho y colon izquierdo respectivamente. Los lotes 3 y 4 de colon derecho e izquierdo se tomaron como grupos experimentales y se les administraron Vitamina C. Los lotes 1 y 3 fueron anestesiados con pentotal sódico y sometidos a laparotomía a fin de localizar el intestino grueso a nivel del colon derecho (ciego) y se provocó una peritonitis al perforar el mismo con una aguja desechable calibre 21, a fin de permitir la salida del material fecal a la cavidad peritoneal. Una vez logrado dicho objetivo, se procedió al cierre de la cavidad. Los lotes 2 y

4 fueron anestesiados de la misma forma y sometidos a laparotomía a fin de localizar el intestino grueso a nivel del colon izquierdo (colon descendente) y se provocó una peritonitis de la misma forma que en los lotes 1 y 3. El cierre se realizó de la misma manera.

A los ratones pertenecientes a los lotes experimentales 3 y 4 se les administró una dosis de ácido ascórbico diluida en solución salina normal al final del procedimiento quirúrgico. Los lotes controles 1 y 2 recibieron de igual forma solución salina normal en la misma cantidad y en el mismo momento. Los ratones se colocaron en cajas en grupos de 15, con agua y comida ad libitum. Su vigilancia se realizó a las 24, 48 y 168 horas de ocurrida la sepsis. Todos los datos fueron tabulados y analizados estadísticamente por el método chi cuadrado con la modificación de Yates. La significancia estadística fue determinada al nivel del 5%.

RESULTADOS

La mortalidad por el procedimiento y el acto anestésico fue del 20%. Se analiza la mortalidad totalizada cada 24 horas en los diferentes grupos experimentales. La Tabla 1 resume los resultados obtenidos en la Experiencia A, donde el lote experimental tratado con Vitamina C mostró un incremento significativo en la sobrevivencia a las 24, 48 y 168 horas cuando se compararon con los ratones del lote control. A las 24 horas, la mortalidad en el grupo control fue del 20% comparado con el 6% del grupo experimental. De igual forma, la mortalidad a las 48 horas del grupo experimental tratado con Vitamina C fue del 20% comparado con el 40% del grupo control. A los 7 días (168 horas) la mortalidad del grupo control se mantuvo con el mismo porcentaje (40%) manteniéndose la tendencia anterior (Fig. 1).

TABLA 1

Efecto de la Vitamina C sobre la mortalidad de ratones en un modelo de sepsis abdominal

	24 horas		48 horas		168 horas		Total
	N	%	N	%	N	%	
Control	6	20	12	40	12	40	30
Experimental	2	7	6	20	8	27	30
Total	8		18		20		

FIGURA 1
EFFECTO DE LA VITAMINA C EN LA SUPERVIVENCIA DE RATONES SEPTICOS

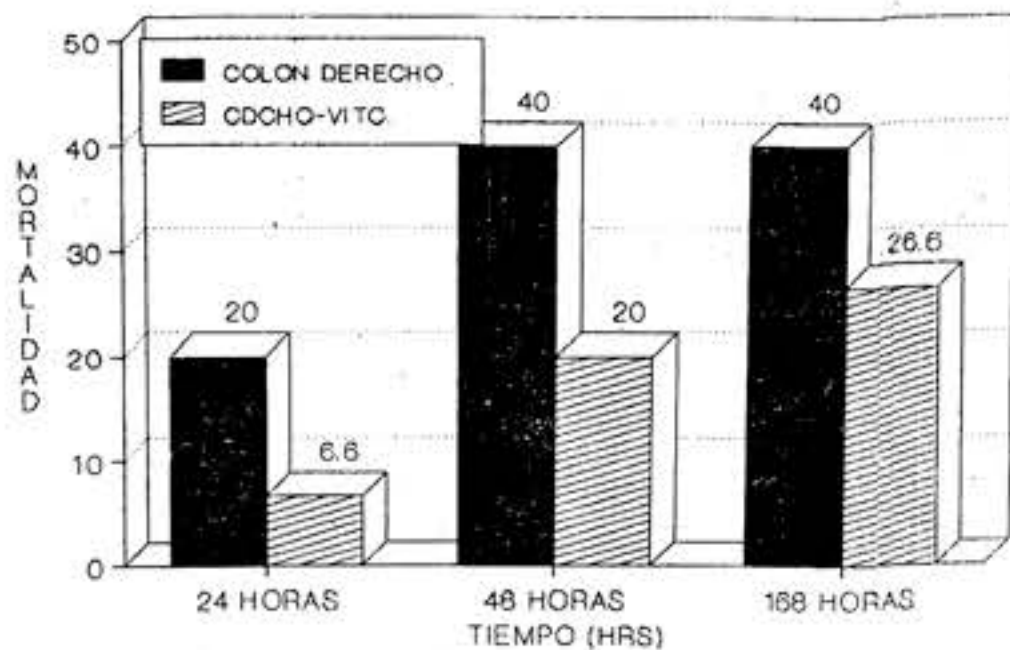
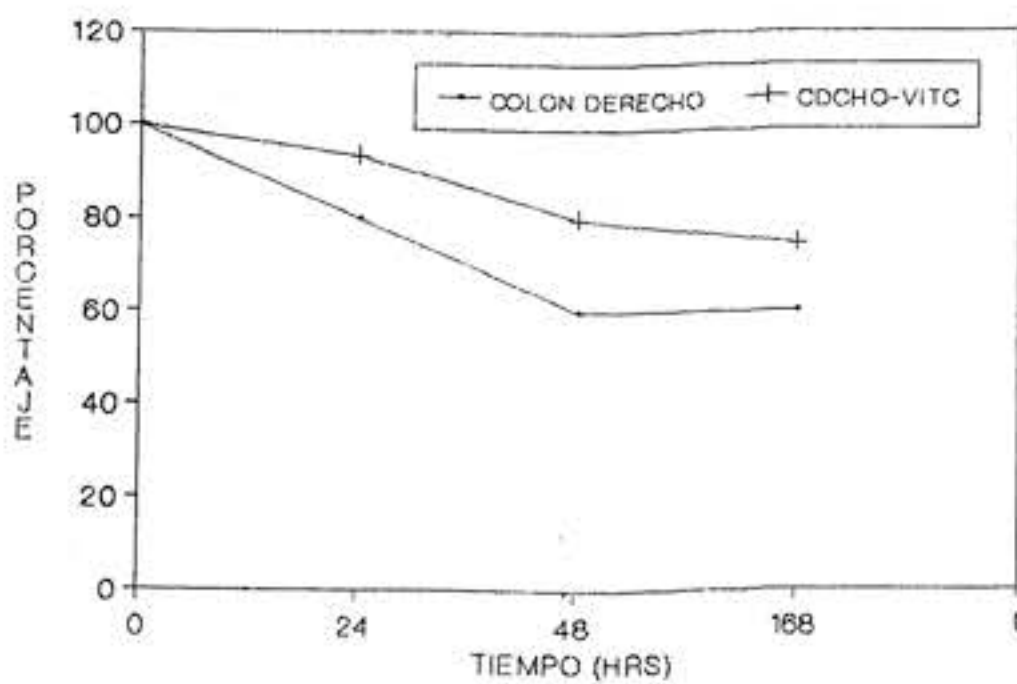


FIGURA 2

EFFECTO DE LA VITAMINA C EN LA SUPERVIVENCIA DE RATONES SEPTICOS



En la Fig. 2 se demuestra la diferencia en sobrevivencia entre el grupo control y el grupo experimental, el cual recibió Vitamina C. Con respecto a la Experiencia B, donde comparamos el efecto de la Vitamina C sobre la mortalidad de los ratones sépticos, de acuerdo a la localización de la perforación en el colon observamos los siguientes resultados: A las 24 horas, el grupo experimental tratado con Vitamina C y cuya sepsis fue provocada a nivel del colon derecho fue el que tuvo menor índice de mortalidad (6.66%). A las 48 horas, este grupo sigue manteniendo el menor índice de mortalidad (20%). Llama la atención que el grupo control cuya sepsis se originó en el colon derecho y no fue tratado con Vitamina C presentó un porcentaje menor que los grupos experimental y control correspondientes al colon izquierdo. A los 7 días (168 horas), los grupos cuya sepsis se produjo a nivel del colon izquierdo, presentaron los porcentajes más elevados (66% para el grupo control y 53.33% para el grupo experimental (Tabla 2). La mortalidad totalizada

cada 24 horas para los diferentes grupos aparece resumido en la Fig 3 en relación a la localización del foco infeccioso y el tiempo de inducida la sepsis. La diferencia en la sobrevivencia para los cuatro grupos aparece resumida en la Fig. 4.

TABLA 2

Efecto de la Vitamina C sobre la mortalidad de los ratones de acuerdo a la localización de la perforación colónica

	24 horas		48 horas		168 horas		Total
	N	%	N	%	N	%	
Colon derecho	6	20	12	40	12	40	30
Colon izquierdo	4	13	20	67	20	67	30
Derecho + Vit. C	2	7	6	20	8	27	30
Izqdo. + Vit. C	4	13	14	47	16	53	30
Total	16		52		56		

FIGURA 3

EFFECTO DE LA VITAMINA C EN LA SUPERVIVENCIA DE RATONES SEPTICOS

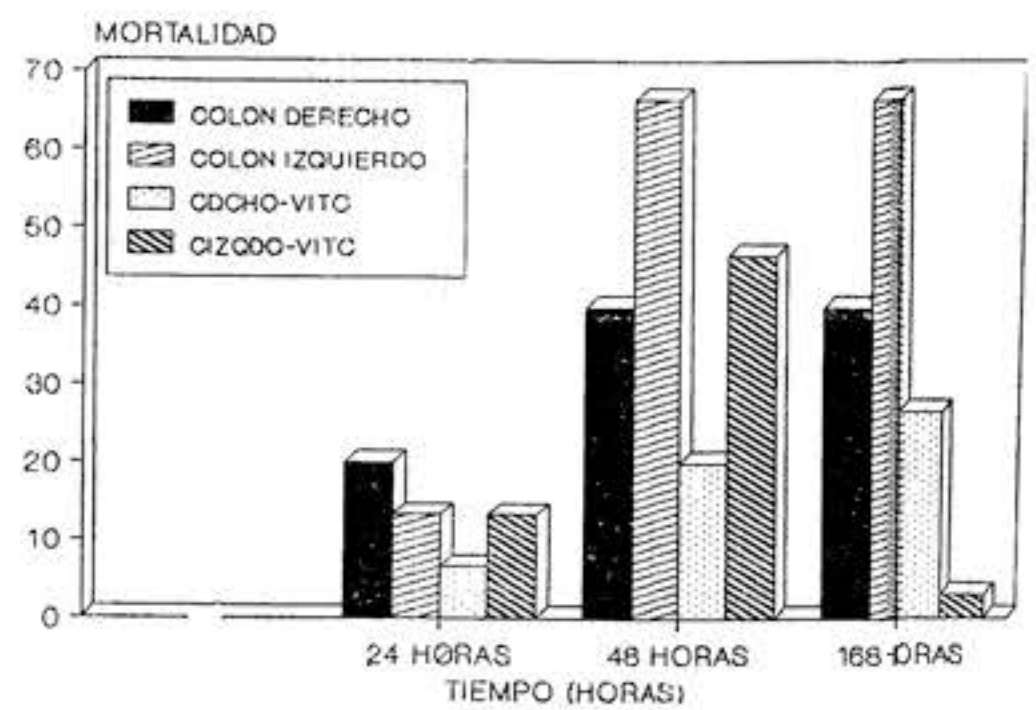
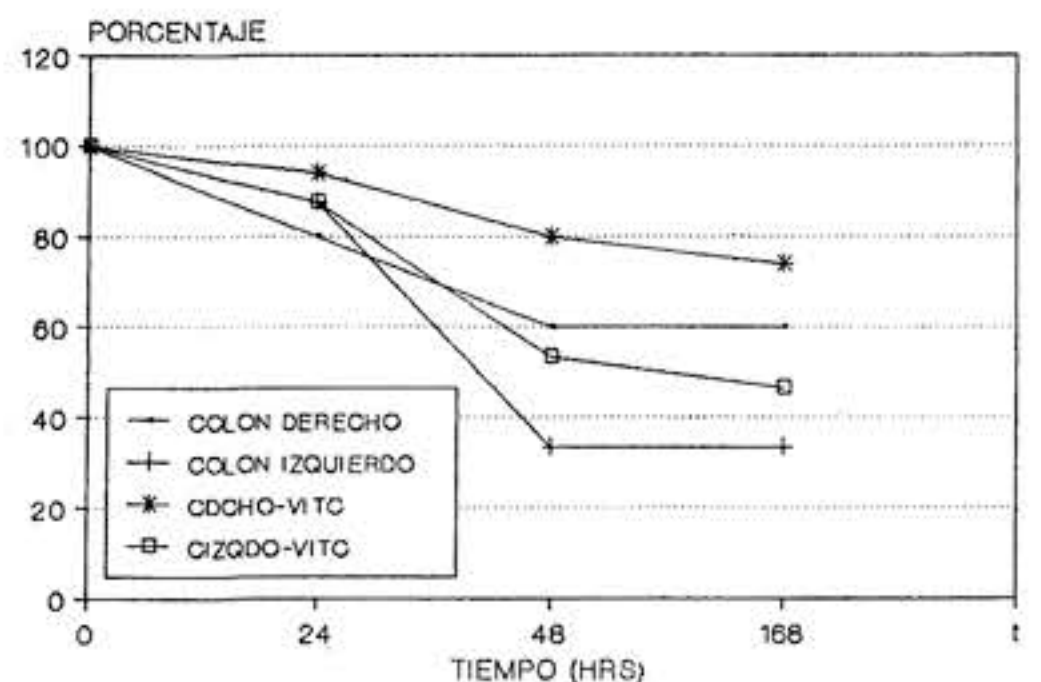


FIGURA 4

EFFECTO DE LA VITAMINA C EN LA SUPERVIVENCIA DE RATONES SEPTICOS



EFFECTO DE LA VITAMINA C

COMENTARIOS

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos inferir que la administración de Vitamina C a ratones sometidos a sepsis abdominal es beneficiosa. Esto pudo ser demostrado en la Experiencia A, al incrementarse en forma significativa la supervivencia en el grupo experimental que recibió ácido ascórbico. Con estos resultados, no podemos atribuir ninguna función específica al ácido ascórbico en la sepsis con respecto al mecanismo de acción, sitio efector, población celular afectada. Corresponde a nuevas experiencias la investigación de su mecanismo y sitio de acción.

Con respecto a la Experiencia B, los resultados parecen indicar que existe una diferencia significativa en el efecto de la Vitamina C con respecto a la localización del foco infeccioso. Esto pudiera ser explicado por la población bacteriana a nivel de los diferentes segmentos del colon, bien sea en número o en la prevalencia de una especie distinta que reaccione menos favorablemente al efecto de la Vitamina C. Pensamos que debemos llevar a cabo un estudio de la flora bacteriana a nivel del colon derecho e izquierdo y estudiar su comportamiento individual "in vitro" ante la Vitamina C.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Baker, H.; Lindsey, J.; Weisbroth, S.- The Laboratory rat, Vol. II. Research and applications, Academic Press, Nueva York, 1979.
- 2 Baker CC., et al.- Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model, *Surgery* 94:331, 1983.
- 3 Cerra, F. B.; Konstantinides, F.; Wade, S.- Vitamin balance in trauma and sepsis. (submitted).
- 4 De Chatelet, L. R. et al.- Ascorbic Acid. Level in phagocytic cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 145: 1170, 1974.
- 5 Lane-Petter, W.; Person, A.- The laboratory animal. Principles and practice. Academic Press, Londres, 1971.
- 6 Marchuck, J. B.; Finley, R. J.; Groves, A. C.- Catabolic hormones and substrates patterns in septic patients. *J. Surg. Res.* 23:177, 1977.
- 7 Nichoalds, G. E.; Meng, H. C.; Caldwell, M. D.- Vitamin requirements in patients receiving total parenteral nutrition. *Arch. Surg.* 112:1061-1064, 1977.
- 8 Nichols, R. L.- Empiric antibiotic therapy for intrabdominal infections. *Rev. Infect. Dis.* 5 (Suppl.): S90-S97, 1983.
- 9 Nohr, C. W.; Tchervenkof, H.- Malnutrition and humoral immunity. *Surgery* 98: 769-72, 1985.
- 10 Solomkin, J. S.; Bauman, M. P.; Nelson, R. D.- Neutrophil dysfunction during the course of intrabdominal infection. *Ann. Surg.* 194:9, 1981.
- 11 Wiles, J.; Cerra, F. B.- The systemic septic response. *Crit. Care Med.* 8:55, 1980.
- 12 Zapata, R. y Col.- Efecto del ácido ascórbico sobre la supervivencia de ratones sépticos. *Arch. Ven. Farmac.*