

Estudio de la termorregulación como marcador asociado al empeoramiento del cuadro de la sepsis experimental en un modelo con animales*

André Luiz Thomaz de Souza^{1,2}

 <https://orcid.org/0000-0001-5158-9247>

Marcelo Eduardo Batalhão¹

 <https://orcid.org/0000-0003-3342-6625>

Evelin Capellari Cárnio¹

 <https://orcid.org/0000-0002-8735-4252>

Objetivo: analizar las variaciones de la temperatura corporal y de las concentraciones de nitrato y lactato en plasma en ratones sometidos a un modelo de sepsis experimental. **Método:** se utilizaron 40 ratones divididos en cinco grupos iguales. La inducción de la endotoxemia se realizó mediante administración intravenosa de 0,5 mg/Kg, 1,5 mg/Kg, 3,0 mg/Kg y 10 mg/Kg de lipopolisacárido, respectivamente. El grupo de control recibió 0,5 mL de solución salina. El experimento duró seis horas, con evaluaciones realizadas a la hora 0 (datos de referencia) y a la 2^a, 4^a y 6^a hora. **Resultados:** los animales que recibieron dosis de hasta 3,0 mg/kg presentaron un aumento significativo de la temperatura corporal, en comparación con el grupo al que se le administró 10 mg/kg, que presentó una disminución de dichos valores. En los grupos a los que se les administró lipopolisacárido, el aumento en las concentraciones de nitrato y lactato en plasma fue significativamente mayor que en el grupo al que se le administró la solución salina y estuvo correlacionado con el aumento de la temperatura corporal. **Conclusión:** las variaciones de la temperatura corporal observadas en este estudio mostraron que los efectos dependieron de la dosis de lipopolisacárido, y estuvieron correlacionadas con el aumento en la concentración de biomarcadores, como el nitrato y lactato en plasma. El estudio reveló la importancia del control de la temperatura corporal, junto con la evaluación de estos marcadores fisiopatológicos, que sugieren un empeoramiento en el pronóstico de la sepsis.

* Artículo parte de la tesis de doctorado "Influência do óxido nítrico sobre a temperatura corporal em ratos com sepse, sepse grave e choque séptico", presentada en la Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Centro Colaborador de la OPS/OMS para el Desarrollo de la Investigación en Enfermería, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Apoyo Financiero de la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Proceso 2016/176819, Brasil.

¹ Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Centro Colaborador de la OPS/OMS para el Desarrollo de la Investigación en Enfermería, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

² Faculdades Integradas do Vale do Ribeira, Faculdade de Enfermagem, Registro, SP, Brasil.

Descriptores: Endotoxemia; Sepsis; Temperatura Corporal; Óxido Nítrico; Lactato Sérico; Biomarcadores.

Cómo citar este artículo

Souza ALT, Batalhão ME, Cárnio EC. Study of thermo-regulation as a worsening marker of experimental sepsis in an animal model. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2020;28:e3290. [Access   ]; Available in:  . DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1518-8345.3364.3290>. mes día año
URL

Introducción

A pesar de la gran cantidad de estudios disponibles en la literatura, todavía se encuentran limitaciones a la hora de comprender cuáles son los mecanismos fisiopatológicos que dan lugar a las altas tasas de morbilidad y mortalidad relacionados con la sepsis en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI)⁽¹⁾. El curso clínico de la enfermedad puede conducir a un empeoramiento del pronóstico, cuando ocurren cambios en las etapas de sepsis grave y de *shock séptico*⁽²⁾. Este cambio representa una tasa de mortalidad que varía del 10% al 40%⁽³⁻⁴⁾.

Entre las manifestaciones clínicas que se presentan en la enfermedad, la temperatura corporal es una importante señal cardinal sobre las condiciones de salud, cuyo riguroso control de la termorregulación puede aumentar las posibilidades de supervivencia de los pacientes⁽⁵⁾. Sin embargo, siguen sin comprenderse los mecanismos que provocan una termorregulación no eficaz durante las etapas más graves de la sepsis, especialmente en relación con la hipotermia^(1,5).

La respuesta inflamatoria exacerbada y la infección son factores determinantes en la evolución clínica de la sepsis⁽⁶⁾, provocando un aumento en la producción de citocinas proinflamatorias (interleucina – (IL-) 1 β , factor de necrosis tumoral – (TNF-) α e interferón – (IFN-) γ) o citocinas antiinflamatorias (interleucina – (IL-) 10, y factor de crecimiento transformante – (TGF-) β)⁽⁷⁻⁸⁾. Durante la respuesta inmune, también se observa un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno como, por ejemplo, el óxido nítrico (NO)⁽⁹⁾.

La formación de NO se produce endógenamente a partir del catabolismo de la L-arginina, generando L-citrulina y NO a través de una reacción enzimática de la enzima NO-sintetasa (NOS)⁽¹⁰⁻¹¹⁾. De todas las isoformas de la enzima NOS producidas en el organismo, el NO inducible (iNOS) es el que participa en la respuesta inmune y puede generarse a través de estímulos externos como, por ejemplo, en presencia de lipopolisacáridos (LPS) y por citocinas proinflamatorias⁽¹⁰⁻¹¹⁾.

Además del aumento del NO durante las etapas de la sepsis, también se puede encontrar lactato en plasma en altas concentraciones. Este aumento puede considerarse como un marcador de hipoperfusión tisular en concentraciones $>1,0$ mmol/L⁽²⁾. El aumento del lactato en plasma tiene su origen en la producción de energía por vía glucolítica anaeróbica⁽¹²⁾, detectada principalmente en el *shock séptico*. Aunque estos dos biomarcadores presentan un aumento significativo durante el curso de la enfermedad, solamente se utiliza el lactato como variable predictora de la gravedad en la práctica clínica.

La termorregulación ha sido ampliamente investigada en modelos experimentales de sepsis y *shock séptico*⁽¹³⁻¹⁴⁾, y se ha evidenciado que el mismo agente inflamatorio puede producir tanto fiebre como

hipotermia⁽¹⁴⁾. Sin embargo, siguen sin comprenderse los mediadores que participan en la hipotermia todavía siguen⁽¹⁵⁾. Se cree que el NO puede influir en el control de la temperatura corporal.

Los estudios en animales han demostrado diferentes efectos del NO sobre la temperatura, tanto en situaciones donde se administran dadores como inhibidores de síntesis⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. En un estudio con un modelo animal sometido a endotoxemia (un cuadro similar a la sepsis), se identificó que el NO actúa como mediador pirético de la fiebre. El estudio reveló que la administración farmacológica de inhibidores de síntesis de NO produjo una disminución de la temperatura corporal durante la respuesta febril⁽¹⁶⁾. Por otra parte, la reducción de los estados febriles también se observó al administrar dadores de NO en el ventrículo cerebral lateral de conejos, revelando un estímulo en la actividad antipirética en el sistema nervioso central⁽¹⁷⁾.

Los estudios en los que se ha realizado una medición de la producción de NO durante la sepsis en seres humanos son escasos, sin embargo, en general evidencian un pequeño aumento de su producción⁽¹⁸⁾. Se sugiere que dicho aumento puede estar correlacionado con la disminución de la temperatura corporal en pacientes con *shock séptico*⁽¹⁹⁾.

Con respecto al lactato, al igual que ocurre con el NO, la relación entre las concentraciones de este marcador fisiopatológico y la temperatura corporal en la sepsis se trata poco en la literatura. En el contexto clínico, las altas concentraciones de lactato sirven como un parámetro global para identificar el deterioro metabólico en pacientes en estado crítico^(12,20).

En la práctica de la enfermería, el control de la temperatura corporal se utiliza como referencia sobre las condiciones fisiopatológicas del paciente. El aumento o la disminución de la temperatura indican situaciones que requieren una intervención inmediata, enfocada en preservar la homeostasis. Por lo tanto, el monitoreo de los signos vitales permite al equipo de enfermería la identificación precoz de cambios orgánicos que sugieren sepsis y/o otras complicaciones⁽²¹⁾. En este contexto, la gestión de la atención médica realizada por el enfermero requiere conocer los cambios morfofuncionales manifestados por el organismo.

Dada la problemática asociada a las etapas de la sepsis y a sus manifestaciones clínicas, este estudio tuvo como objetivo analizar las variaciones de la temperatura corporal y de las concentraciones de nitrato y lactato en plasma en ratones sometidos a un modelo de sepsis experimental. Esta investigación es importante para ampliar los conocimientos acerca de cómo influyen los biomarcadores en la termorregulación.

Método

Estudio experimental realizado con 40 ratones *Wistar* de 8 a 12 semanas de edad y peso corporal

de 200 a 300 gramos. Los animales se mantuvieron en estanterías ventiladas con temperatura ambiente controlada ($25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$). Además, fueron expuestos a un régimen de iluminación con ciclos de luz/oscuridad de 12/12 horas, con libre acceso al agua y con una dieta comercial equilibrada. Para evitar variaciones circadianas, todos los experimentos se iniciaron siempre entre las 8:00 y las 10:00 de la mañana. Las fases experimentales se llevaron a cabo de acuerdo con la Comisión de Ética en Experimentación Animal de la Facultad de Enfermería de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo - USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil (protocolo N.º 15737.22.0).

El protocolo experimental adoptado en este estudio incluyó la administración intravenosa de una solución fisiológica al 0,9% (solución salina) o de diferentes concentraciones de LPS de *Escherichia coli* Serotipo 0111:B4 (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EE. UU.), los registros de temperatura corporal ($^{\circ}\text{C}$) y la recolección de sangre para analizar la concentración de nitrato (μM) y lactato (mmol/L) en plasma. Los 40 animales se distribuyeron en cinco grupos iguales, con ocho animales cada uno. Un grupo (el de control) recibió 0,5 mL de solución salina y los demás recibieron dosis de LPS iguales a 0,5 mg/kg, 1,5 mg/kg, 3,0 mg/kg y 10 mg/kg, respectivamente.

Para el control de la temperatura corporal, seis días antes de la inducción de los modelos experimentales, se insertó una cápsula de *datalogger* en la cavidad peritoneal, a través de una incisión quirúrgica en la pared abdominal, bajo anestesia general con clorhidrato de xilacina al 2% (2 mg/mL) y clorhidrato de ketamina al 10% (10 mg/mL), administrado en una dosis única de 0,10 mL por cada 100g de peso del animal y por vía intraperitoneal (IP).

Las cápsulas de *dataloggers* se programaron previamente para realizar registros de temperatura corporal ($^{\circ}\text{C}$) cada 15 minutos, durante períodos de 24 horas. Después de la inserción, el sitio de la incisión se suturó con puntos reabsorbibles. Al terminar la cirugía, los animales recibieron profilaxis con bencilpenicilina (120,000 UI) y estreptomina (50 mg) y terapia analgésica con flunixin meglumina (2,5 mg/kg) por vía intramuscular (IM) en una única dosis. El tiempo de recuperación post-quirúrgico fue de cinco días.

Para la administración del LPS o de la solución salina por vía intravenosa, los ratones fueron anestesiados nuevamente y se les canuló la vena yugular de acuerdo con las técnicas descritas en la literatura⁽²²⁾. Se utilizaron cánulas de silastic (Sigma-Aldrich®) heparinizadas, con una longitud total de 10 cm. Se insertaron aproximadamente 1,7 cm dentro de la vena yugular, en dirección a la aurícula derecha. Las demás partes de la cánula se colocaron en la

espalda del animal con la ayuda de un trocar y se fijaron con hilo de algodón, en bloques con puntos simples.

Inmediatamente después de colocar la cánula en la vena yugular, a los animales se les canuló la arteria femoral. En la arteria femoral, en dirección a la aorta abdominal, se insertó una cánula de polietileno (PE), formada por un segmento de PE-10 de 4,5 cm de longitud, conectado a un catéter de PE-50 de 15 cm. Finalmente, la cánula se fijó en su lugar y su extremo libre se dejó en el exterior, fijándola también a la espalda del animal. Esta cánula se usó para la recolección de muestras de sangre.

Después de que se completaran los procedimientos de canulación de los vasos, los animales recibieron de nuevo la misma profilaxis que después de la inserción del *datalogger* y se los colocó en la estantería ventilada, dejándoles libre acceso al agua y al pienso, hasta el inicio de la inducción de los modelos experimentales que tuvieron lugar una vez transcurridas 24 horas.

En el laboratorio, la temperatura ambiente se mantuvo en $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Primeramente, los animales fueron sometidos a un proceso de adaptación al entorno para así alcanzar el equilibrio térmico entre el cuerpo y la temperatura ambiente. Después de seis horas de experimento, los animales fueron sacrificados y se retiró la cápsula de *datalogger* de la cavidad peritoneal. Tanto la programación como la obtención de los registros de temperatura se realizaron por medio del *software* SubCue Analyzer.

Para evaluar las concentraciones de nitrato y lactato en plasma se tomaron muestras de sangre utilizando la cánula femoral (0,4 mL) a la hora 0 (datos de referencia) y a las 2, 4 y 6 horas después de la inducción de los modelos experimentales. Luego de medir el lactato, las muestras de sangre se almacenaron en tubos de polipropileno que contenían heparina de sodio (1,500 UI/tubo), y se los colocó inmediatamente en hielo. La reposición volumétrica, referente a las alícuotas de sangre tomadas de los animales en los horarios descritos, se realizó en la misma proporción (0,4 mL) con solución fisiológica al 0,9%.

La medición del lactato en plasma se realizó mediante el dispositivo portátil ACCUTREND PLUS (Roche®), usando tiras reactivas específicas (Accusport BM – Lactate). Inmediatamente después de la extracción de sangre se colocó una pequeña alícuota sobre la tira reactiva y las partes restantes se almacenaron a -20°C , para la posterior medición del nitrato en plasma. Con la tira llena de sangre, el dispositivo permitió identificar un rango de valores de 0,8 a 22 mmol/L, con un tiempo de medición de 60 segundos.

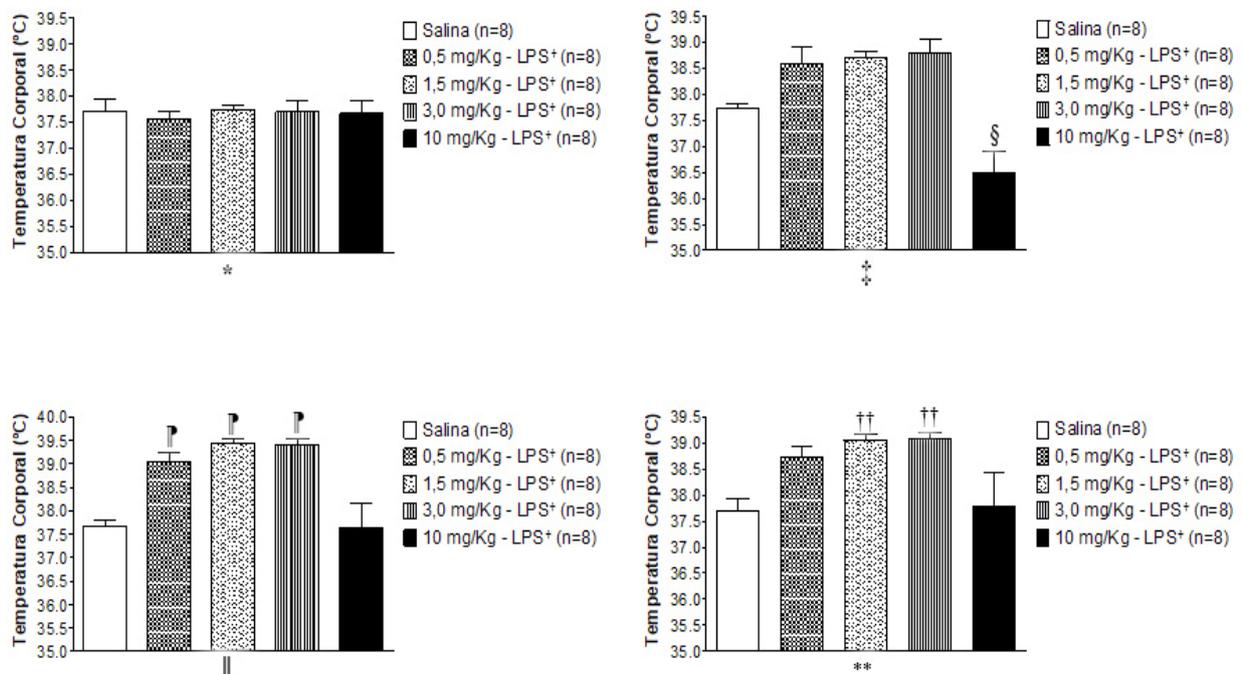
El nitrato en plasma se determinó por medio del sistema Sievers (*Instruments Nitric Oxide Analyzer*). Después de centrifugar la sangre a 5.000 rpm durante 10 minutos, las muestras de plasma obtenidas se desproteinizaron usando etanol absoluto frío.

A continuación, las muestras se inyectaron en un recipiente que contenía tricloruro de vanadio (VCl_3), que convierte el nitrato en NO. El NO producido se detectó por medio de ozono inducido por quimioluminiscencia. Las concentraciones máximas de NO de estas muestras se determinaron utilizando la curva estándar, establecida con soluciones de nitrato de sodio de varias concentraciones (0, 7,5, 15, 30, 60, 120, y 240 μM).

Los datos se analizaron mediante el Análisis de Varianza Unidireccional (One-Way ANOVA), seguido del post-test de Tukey, para comprobar las diferencias entre las medias de los grupos experimentales 0, 2, 4 y 6 horas después de la administración del LPS o de la solución salina. Los valores medios obtenidos a la hora 0 se consideraron como los valores de referencia. Asimismo, para identificar posibles asociaciones entre las variables investigadas y de acuerdo con la dosis de LPS administrada, se utilizó el Coeficiente de Correlación de Pearson y/o el Coeficiente de Correlación de Spearman. Los resultados se presentaron en gráficos de media y Error Estándar de la Media (EEM). El nivel de significancia adoptado para todos los tests fue de 0,05 (5%).

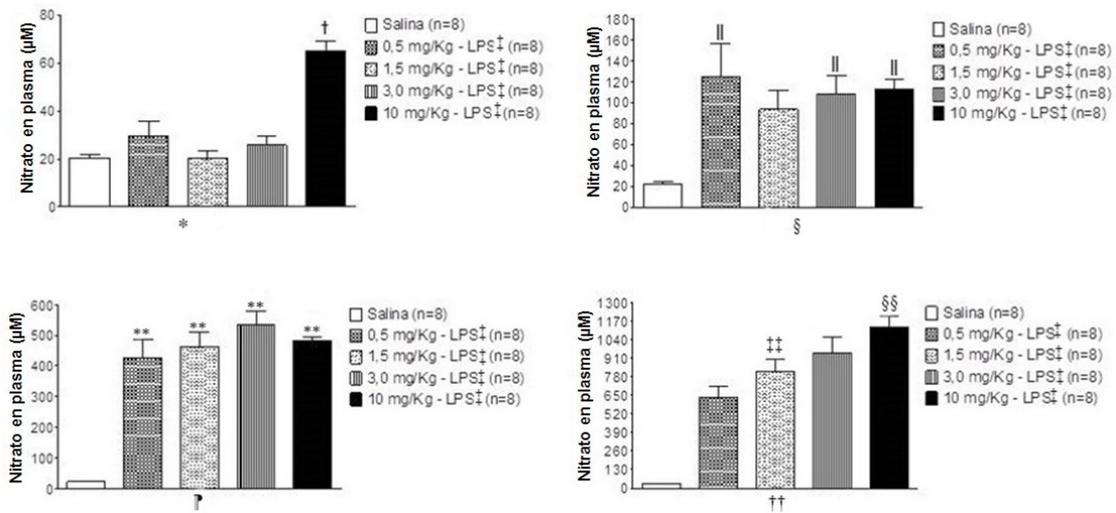
Resultados

La administración de LPS con una concentración de 10 mg/kg redujo significativamente la temperatura corporal de los animales en comparación con los demás grupos después de dos horas de experimento (Figura 1^{*}).



*Hora 0 – medida antes de la administración del LPS o de la solución salina; †LPS = Lipopolisacárido; ‡2 horas después; §Indica una diferencia estadística entre los grupos con 10 mg/Kg – LPS versus los grupos con 0,5, 1,5 y 3,0 mg/Kg – LPS; †Indica una diferencia estadística entre los grupos con 0,5, 1,5 y 3,0 mg/Kg – LPS versus los grupos con solución salina y con 10 mg/Kg – LPS; **6 horas después; ††Indica una diferencia estadística entre los grupos con 1,5 y 3,0 mg/Kg – LPS versus el grupo con solución salina. Se identificó una diferencia estadística por medio del One-Way ANOVA, seguido del post-test de comparación múltiple de Tukey ($p < 0,05$).

Figura 1 – Efecto de la administración de diferentes dosis de LPS sobre la temperatura corporal



*Hora 0 – medida antes de la administración del LPS o de la solución salina; †Indica una diferencia estadística entre el grupo con 10 mg/Kg – LPS versus los grupos con solución salina, y con 0,5, 1,5 y 3,0 mg/Kg – LPS; ‡LPS = Lipopolisacárido; §2 horas después; ¶Indica una diferencia estadística entre los grupos con 0,5, 3,0 y 10 mg/Kg – LPS versus los grupos con solución salina y con 1,5 mg/Kg – LPS; ††Indica una diferencia estadística entre los grupos con 0,5, 1,5, 3,0 y 10 mg/Kg – LPS versus el grupo con solución salina; †††Indica una diferencia estadística entre el grupo con 1,5 mg/Kg – LPS versus el grupo con 3,0 mg/Kg – LPS; §§Indica una diferencia estadística entre el grupo con 10 mg/Kg – LPS versus los grupos con 0,5 y 1,5 mg/Kg – LPS. Se identificó una diferencia estadística por medio del One-Way ANOVA, seguido del post-test de comparación múltiple de Tukey (p<0,05).

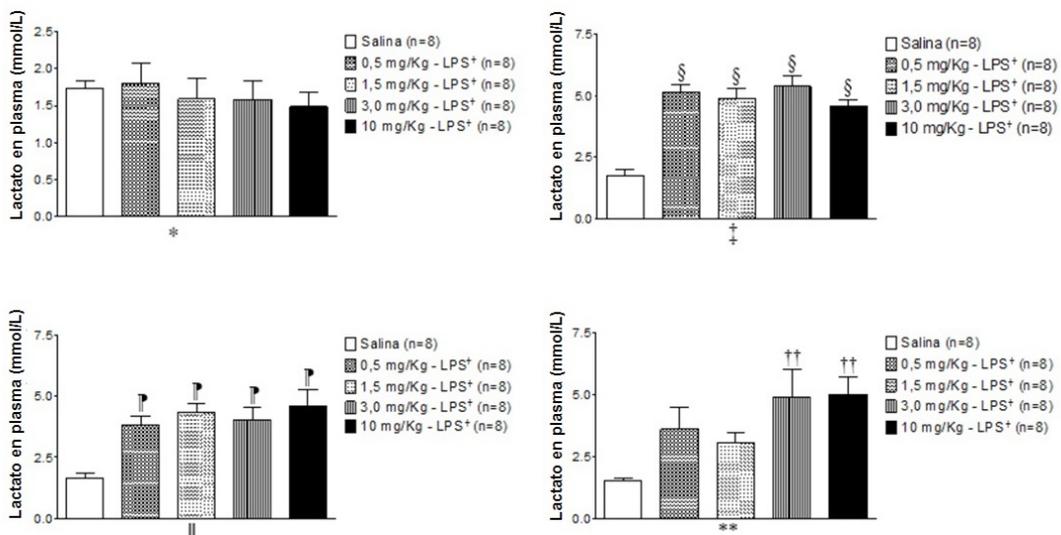
Figura 2 – Efecto de la administración de diferentes dosis de LPS sobre la concentración de nitrato en plasma

Las concentraciones de lactato en plasma a la hora cero no difirieron entre los grupos experimentales. Sin embargo, a la segunda y cuarta hora se registraron aumentos significativos de dichas concentraciones, generando un aumento estadísticamente significativo al comparar el LPS con la solución salina (Figuras 3[†] y 3[¶]). Después de seis horas solo se observaron diferencias significativas en la comparación de los grupos con dosis más altas de LPS (en concreto, las de 3,0 y 10 mg/kg), al contrastarlos con el grupo con solución salina (Figura 3^{††}).

En el análisis de correlación entre las concentraciones de nitrato en plasma y la temperatura corporal de los modelos experimentales (Figura 4) no se encontraron diferencias significativas en los grupos con solución

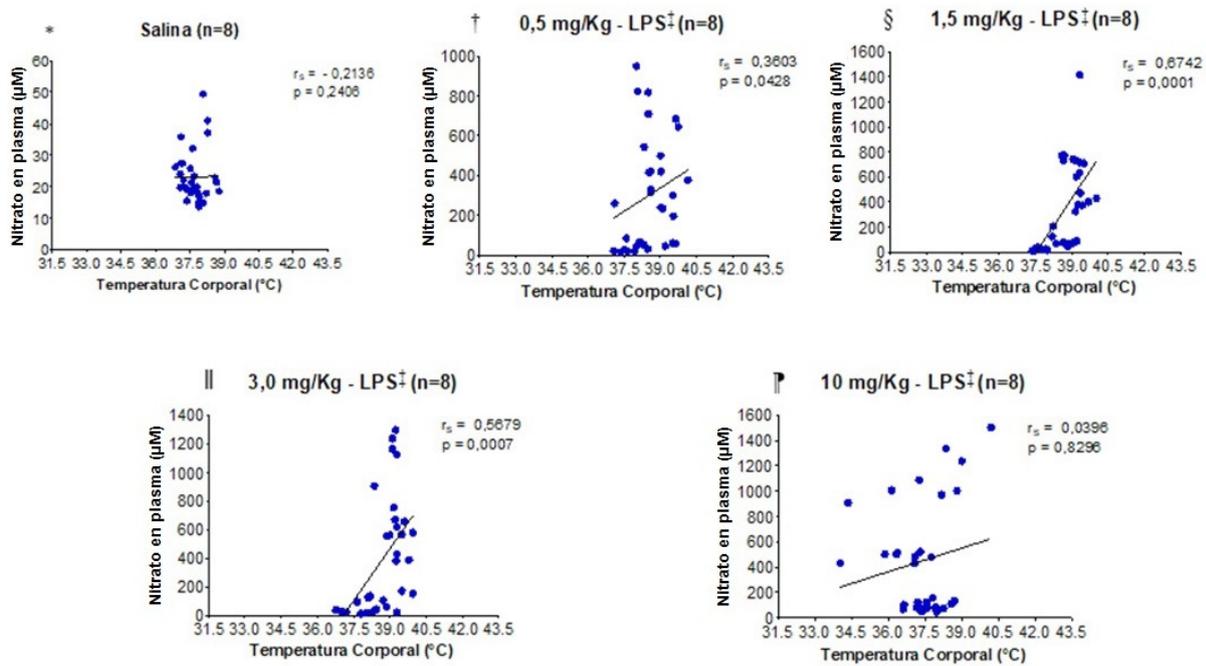
salina y con 10 mg/Kg – LPS. Sin embargo, sí hubo una correlación significativa en los grupos con 0,5 mg/kg – LPS, 1,5 mg/Kg – LPS; y con 3,0 mg/Kg – LPS. La correlación significativa que se muestra en la Figura 4 indica que cuanto mayor es la concentración de nitrato en plasma, mayor es la temperatura corporal.

La correlación entre las concentraciones de lactato en plasma y la temperatura corporal de los modelos experimentales (Figura 5) no mostró diferencias estadísticas en los grupos con solución salina, con 0,5 mg/Kg – LPS y con 10 mg/Kg – LPS. Sin embargo, los animales que recibieron 1,5 mg/Kg – LPS y 3,0 mg/Kg – LPS presentaron una correlación significativa de forma que, cuanto mayor fue la concentración de lactato en plasma, mayor fue la temperatura corporal.



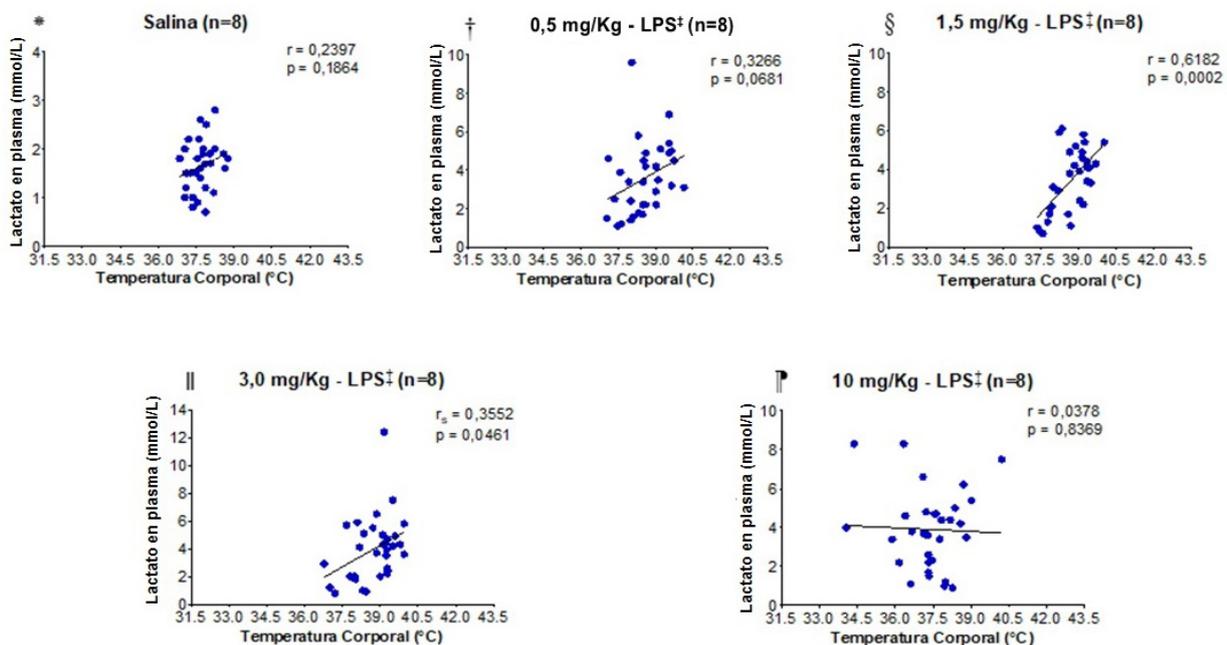
*Hora 0 – medida antes de la administración del LPS o de la solución salina; †LPS = Lipopolisacárido; ‡2 horas después; ¶Indica una diferencia estadística entre los grupos con 0,5, 1,5 y 3,0 y con 10 mg/Kg – LPS versus el grupo con solución salina; ††Indica una diferencia estadística entre los grupos con 0,5, 1,5 y 3,0 y 10 mg/Kg – LPS versus el grupo con solución salina; **6 horas después; †††Indica una diferencia estadística entre los grupos con 3,0 y 10 mg/Kg – LPS versus el grupo con solución salina. Se identificó una diferencia estadística por medio del One-Way ANOVA, seguido del post-test de comparación múltiple de Tukey (p<0,05).

Figura 3 – Efecto de la administración de diferentes dosis de LPS en las concentraciones de lactato en plasma



*Solución salina; †0,5 mg/Kg - LPS; ‡LPS = Lipopolisacárido; §1,5 mg/Kg - LPS; ||3,0 mg/Kg - LPS; ¶10 mg/Kg - LPS

Figura 4 – Diagrama de dispersión para el análisis de la correlación entre las concentraciones de nitrato en plasma y la temperatura corporal



*Solución salina; †0,5 mg/Kg - LPS; ‡LPS = Lipopolisacárido; §1,5 mg/Kg - LPS; ||3,0 mg/Kg - LPS; ¶10 mg/Kg - LPS.

Figura 5 – Diagrama de dispersión para el análisis de la correlación entre las concentraciones de lactato en plasma y la temperatura corporal

Discusión

Este estudio muestra, por primera vez, la correlación entre la temperatura corporal y los mediadores que intervienen en la fisiopatología de la sepsis y del shock séptico (NO y lactato en plasma), en animales sometidos a

un modelo de sepsis experimental con diferentes dosis de LPS. Los animales presentaron una termorregulación no eficaz, acompañada de un aumento en las concentraciones en plasma de los marcadores fisiológicos analizados.

En los seres humanos, los cambios en la temperatura corporal identificados en la sepsis también están

relacionados con fiebre y/o hipotermia, siendo estas señales determinantes para el rastreo y el diagnóstico de la enfermedad⁽²⁾. Se indica que la fiebre puede ser un síntoma frecuente en la sepsis. Por el contrario, la hipotermia es común en el *shock* séptico, y se interpreta como un empeoramiento clínico en el pronóstico del paciente, aumentando sus probabilidades de muerte^(5,23-24).

Aunque existen diferentes intentos de reproducir la sepsis y el *shock* séptico en modelos animales, es importante interpretar los resultados con cautela, ya que los ratones presentan respuestas diferentes a las de los humanos⁽²⁴⁾. En cuadros de infección, el ser humano normalmente presenta fiebre, pudiendo, en algunos casos, haber una disminución en los valores de temperatura, mientras que, frente a una infección significativa, los roedores normalmente presentan una disminución de la temperatura corporal⁽²⁴⁻²⁵⁾.

Hasta el momento, lo que se conoce sobre el rol del NO en la regulación de la temperatura corporal deriva en distintas interpretaciones: algunos estudios señalan que inhibir la síntesis del NO con el uso de L-NAME (inhibidor de síntesis del NO) inyectado en el peritoneo previno la fiebre en animales a los que se le administró LPS⁽²⁶⁾, lo que sugiere que el NO puede actuar como mediador pirético de la fiebre. Por otro lado, también se ha demostrado que el aumento en las concentraciones de NO en animales sometidos a endotoxemia derivó en hipotermia⁽²⁷⁾. Asimismo, la administración de dadores de NO en la región intracerebroventricular redujo la fiebre en conejos⁽¹⁷⁾, lo que sugiere un efecto antipirético central.

En un estudio con seres humanos realizado por investigadores de nuestro laboratorio, se observó una correlación entre la caída de la temperatura corporal y el aumento de las concentraciones en plasma del NO en casos de *shock* séptico, lo que no fue observado durante la sepsis⁽¹⁹⁾. Sin embargo, sí observamos una correlación positiva en los grupos de animales que recibieron dosis más bajas de LPS. En estos casos, los valores de la temperatura corporal estuvieron directamente relacionados con las concentraciones de NO. Esta diferencia entre los grupos de animales que recibieron diferentes dosis se puede atribuir a una mayor resistencia de los animales experimentales al LPS.

La correlación observada entre las dosis de NO y la temperatura corporal en la endotoxemia, con dosis menores de LPS, puede indicar que el NO, dada su propiedad bactericida⁽²⁸⁾, asociado al aumento de la temperatura corporal, actúa como un medio de defensa del organismo. De esta manera, el aumento de la temperatura puede estar vinculado a una mayor actividad del sistema inmune que, al producir prostaglandina E2 (PGE2), genera un aumento de la temperatura corporal.

Por otro lado, conociendo el efecto nocivo del NO en altas concentraciones, la correlación inversa observada en estudios con seres humanos⁽¹⁹⁾ durante el *shock* séptico puede ser un indicativo de falla en la capacidad de respuesta del organismo, asociada con el aumento del estrés oxidativo y, por consiguiente, con la hipotermia.

Considerando las diferentes respuestas entre humanos y animales, los resultados de nuestro estudio sugieren que una mayor concentración de NO en humanos daría lugar, probablemente, a una disminución de la temperatura corporal, visto que en los animales ocurre el efecto opuesto. Esta hipótesis se ha investigado en estudios con seres humanos, confirmándose la correlación entre el aumento de las concentraciones de nitrato y la disminución de la temperatura corporal en el *shock* séptico⁽¹⁹⁾.

Cabe señalar que la disminución intensa de la temperatura corporal observada en el grupo que recibió la dosis más alta de LPS (10 mg/kg), junto con el aumento significativo en las concentraciones de nitrato, demuestra que cuanto mayor sea la dosis administrada, menor será la temperatura corporal, confirmándose así los resultados encontrados en la literatura⁽²⁹⁾.

En nuestro estudio también se detectó un aumento significativo en las concentraciones de lactato en plasma en los grupos con LPS. Ambos marcadores de la sepsis (nitrato y lactato), junto con la evaluación de los signos vitales, son importantes indicadores de la gravedad clínica de la sepsis en humanos. Se destaca que el lactato se utiliza como parámetro para el diagnóstico del *shock* séptico⁽³⁰⁾. Por tratarse de un mediador de difícil medición en entornos clínicos, la evaluación del NO frecuentemente se restringe a la investigación científica.

Durante las etapas de la sepsis y en situaciones de endotoxemia se registra un aumento en el metabolismo anaeróbico y en la producción de lactato, lo que a su vez altera el funcionamiento de las células inmunes⁽³¹⁾. El aumento de esta producción puede derivar en la regulación negativa de enzimas glucolíticas, en concreto de la hexoquinasa y de la fosfofructoquinasa, tanto en células inmunes⁽³²⁾ como en diversidad de tejidos⁽³³⁾. Por lo tanto, considerando la importancia de la glucólisis aeróbica para el funcionamiento de las células del sistema inmunológico en actividad, la regulación negativa de estas enzimas bajo la influencia del lactato afecta el deterioro funcional de dichas células⁽⁶⁾.

En estudios recientes se demostró que la disminución en la producción de lactato derivó en un aumento de la sobrevivencia de los animales⁽³⁴⁻³⁶⁾, mientras que altas concentraciones de lactato en soluciones de diálisis peritoneal inhibieron la maduración de células dendríticas inducida por LPS (10 ng/mL)⁽³⁷⁾. El tratamiento con lactato también aumentó la producción de genes asociados al M2 (VEGF y Arg1) y marcadores (Fizz1, Mgl1 y Mgl2)⁽³⁸⁾. El M2 es un fenotipo inmunosupresor derivado de macrófagos que se encuentra en las fases tardías de la sepsis, y su aumento puede dar lugar a una disfunción crítica en el sistema inmunológico⁽³⁸⁾.

En el sistema inmune adaptativo, la presencia de altas concentraciones de lactato en el líquido sinovial y en las articulaciones de pacientes con artritis reumatoide, desempeñó un rol de señalizador para la localización de células T en el lugar de inflamación⁽³²⁾. Al realizar ensayos *in vitro*, los autores del estudio señalan que el lactato sódico

extracelular y el ácido láctico bloquean, respectivamente, la motilidad de las células T CD4+ y CD8+⁽³²⁾.

Al igual que en los modelos animales, el aumento de las concentraciones de lactato en la sepsis y en el *shock* séptico en seres humanos se interpreta como un mal pronóstico. Este aumento repercute en la reducción de las probabilidades de supervivencia⁽²⁰⁾ y señala disfunciones en el sistema inmunológico⁽³¹⁻³²⁾. En este contexto, nuestros resultados refuerzan la importancia de controlar el lactato en investigaciones experimentales y clínicas, puesto que se trata de una variable fácil de medir y permite comprender cómo se comporta en la endotoxemia y/o la sepsis.

Los datos obtenidos en nuestro estudio, que muestran la elevación de las concentraciones de lactato después de la administración de LPS, están en consonancia con las evidencias de la literatura^(13,39). Este aumento parece tener un efecto inmuno-modulador que conduce a cambios en la termorregulación. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que puedan explicar el efecto del lactato sobre la temperatura corporal. Creemos que existe la posibilidad de considerar las evaluaciones de la temperatura corporal, asociadas con las concentraciones de NO y lactato en plasma, como una forma de evaluar un cambio en el pronóstico del paciente con sepsis.

Las limitaciones del presente estudio están relacionadas con la ausencia de caracterización en el modelo experimental de *shock* séptico, como una forma para analizar los efectos de la endotoxemia sobre la temperatura corporal. El análisis de la termorregulación en un modelo de *shock* séptico experimental podrá reflejar de una manera más clara los efectos del LPS sobre la hipotermia y sobre las concentraciones de nitrato y lactato en plasma. Por lo tanto, también sugerimos la evaluación de estos biomarcadores en modelos experimentales de *shock* séptico.

Conclusión

Este estudio demostró que los animales sometidos a sepsis experimental presentaron una termorregulación no eficaz, dependiendo de la dosis de LPS administrada. Los animales que recibieron dosis más altas de LPS presentaron una temperatura significativamente más baja en comparación con los demás grupos endotoxémicos, que presentaron un aumento de la temperatura. Junto con este comportamiento se produjo un aumento en las concentraciones de NO y lactato en plasma. También se identificó que la fiebre estuvo correlacionada con altas concentraciones de NO y de lactato en plasma, importantes mediadores fisiopatológicos observados durante la endotoxemia. A modo de repercusiones para la Enfermería, el estudio reveló la importancia del control de la temperatura corporal, junto con la evaluación de estos marcadores fisiopatológicos, que sugieren un empeoramiento en el pronóstico de la sepsis.

Referencias

1. Zhang Z, Chen L, NI H. Antipyretic therapy in critically ill patients with sepsis: an interaction with body temperature. PLoS One. [Internet]. 2015 [cited Jan 24, 2019];10(3):e0121919. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0121919>
2. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012. Crit Care Med. [Internet]. 2013 [cited Jan 20, 2019];41(2):590-637. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=23353941>
3. Vincent JL, Jones G, Olariu E, Cadwell KK. Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America: a systematic review and meta-analysis. Crit Care. [Internet]. 2019 [cited Jan 05, 2020];23(1):196. Available: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-019-2478-6>
4. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. Am J Respir Crit Care Med. [Internet]. 2016 [cited Jan 05, 2020];193(3):259-72. Available from: https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/rccm.201504-0781OC?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed
5. Léon K, Pichavant-Rafini K, Ollivier H, Monbet V, L'Her E. Does induction time of mild hypothermia influence survival duration of septic rats? Ther Hypothermia Temp Manag. [Internet]. 2015 [cited Jan 15, 2019];5(2):85-8. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ther.2014.0024?rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=ther
6. Fan X, Liu Z, Jin H, Yan J, Liang HP. Alterations of dendritic cells in sepsis: featured role in immune paralysis. Biomed Res Int. [Internet]. 2015 [cited Jan 15, 2019]; 903720. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/903720/>
7. Novotny AR, Reim D, Assfalg V, Altmayr F, Friess HM, Emmanuel K, et al. Mixed antagonist response and sepsis severity-dependent dysbalance of pro- and anti-inflammatory responses at the onset of postoperative sepsis. Immunobiology. [Internet]. 2012 [cited Jan 16, 2019];217(6):616-21. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171298511002294?via%3Dihub>
8. Gautam A, Dixit S, Embers M, Gautam R, Philipp MT, Singh SR, et al. Different patterns of expression. And of IL-10 modulation of inflammatory mediators from macrophages of Lyme disease-resistant and -

- susceptible mice. *PLoS One*. [Internet]. 2012 [cited Jan 16, 2019];7(9):e43860. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0043860>
9. Yarosz EL, Chang CH. The role of reactive oxygen species in regulating T cell-mediated immunity and disease. *Immune Netw*. [Internet]. 2018 [cited Jan 05, 2020];18(1):e14. Available from: <https://immunenetw.org/DOIx.php?id=10.4110/in.2018.18.e14>
10. Cinelli MA, Do HT, Miley GP, Silverman RB. Inducible nitric oxide synthase: regulation, structure and inhibition. *Med Res Rev*. [Internet]. [cited Jan 05, 2020];40(1):158-89. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/med.21599>
11. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. [Internet]. 1991 [cited Jan 15, 2019];43(2):109-42. Available from: <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/43/2/109.long>
12. Ryoo SM, Kim WY. Clinical applications of lactate testing in patients with sepsis and septic shock. *J Emerg Crit Care Med*. [Internet]. 2018 [cited Jan 15, 2019];2(14):1-10. Available from: <http://jeccm.amegroups.com/article/view/4083/4694>
13. Saia RS, Bertozzi G, Mestriner FL, Antunes-Rodrigues J, Queiróz Cunha F, Cárnio EC. Cardiovascular and inflammatory response to cholecystokinin during endotoxemic shock. *Shock*. [Internet]. 2013 [cited Jan 16, 2019];39(1):104-13. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=23247127>
14. Romanovsky AA, Almeida MC, Aronoff DM, Ivanov AI, Konsman JP, Steiner AA, et al. Fever and hypothermia in systemic inflammation: recent discoveries and revisions. *Front Biosci*. [Internet]. 2005 [cited Jan 16, 2019];10:2193-216. Available from: <https://www.bioscience.org/2005/v10/af/1690/fulltext.htm>
15. Garami A, Steiner AA, Romanovsky AA. Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handb Clin Neurol*. [Internet]. 2018 [cited Jan 16, 2019];157:565-97. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444640741000343?via%3Dihub>
16. Scammell TE, Elmquist JK, Saper CB. Inhibition of nitric oxide synthase produces hypothermia and depressões lipopolysaccharide fever. *Am J Physiol*. [Internet]. 1996 [cited Jan 17, 2019];271(2 Pt 2):R333-8. Available from: <https://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpregu.1996.271.2.R333>
17. Gourine AV. Pharmacological evidence that nitric oxide can act as an endogenous antipyretic factor in endotoxin-induced fever rabbits. *Gen Pharmacol*. [Internet]. 1995 [cited Jan 18, 2019];26(4):835-41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030636239400240N?via%3Dihub>
18. Hakim TS, Pedoto A, Nandi J, Bosco G, Rubini A, Mangar D, et al. Hypothermia attenuates NO production in anesthetized rats with endotoxemia. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. [Internet]. 2014 [cited Jan 18, 2019];387(7):659-65. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00210-014-0977-1>
19. Pereira FH, Batalhão ME, Cárnio EC. Correlation between body temperature, blood pressure and plasmatic nitric oxide in septic patients. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. [Internet]. 2014 [cited Jan 15, 2019];22(1):123-8. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-1692014000100123&script=sci_arttext&lng=pt
20. Song JE, Kim MH, Jeong WY, Jung IY, Oh DH, Kim YC, et al. Mortality risk factors for patients with septic shock after implementation of the surviving sepsis campaign bundles. *Infect Chemother*. [Internet]. 2016 [cited Jan 05, 2020];48(3):199-208. Available from: <https://www.icjournal.org/DOIx.php?id=10.3947/ic.2016.48.3.199>
21. Torsvik M, Gustad LT, Mehl A, Bangstad IL, Vinje LJ, Damås JK, et al. Early identification of sepsis in hospital inpatients by ward nurses increases 30-day survival. *Crit Care*. [Internet]. 2016 [cited Jan 05, 2020];20(1):244. Available from: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-016-1423-1>
22. Harms PG, Ojeda SR. A rapid and simple procedure for chronic cannulation of the rat jugular vein. *J Appl Physiol*. [Internet]. 1974 [cited Jan 15, 2019];36(3):391-2. Available from: <https://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/jappl.1974.36.3.391>
23. Rumbus Z, Matics R, Hegyi P, Zsiboras C, Szabo I, Illes A, et al. Fever is Associated with reduced, hypothermia with increased mortality in septic patients: a meta-analysis of clinical trials. *PLoS One*. [Internet]. 2017 [cited Jan 05, 2020];12(1):e0170152. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0170152>
24. Remick DG, Xia H. Hypothermia and sepsis. *Front Biosci*. [Internet]. 2006 [cited Jan 20, 2019];11:1006-13. Available from: <https://www.bioscience.org/2006/v11/af/1858/fulltext.htm>
25. Saito H, Sherwood ER, Varma TK, Evers BM. Effects of aging on mortality, hypothermia, and cytokine induction in mice with endotoxemia or sepsis. *Mech Ageing Dev*. [Internet]. 2003 [cited Jan 20, 2019];124(10-12):1047-58. Available from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0047637403001763?via%3Dihub>
26. Soszynski D. The inhibition of nitric oxide synthase suppresses LPS - and psychological stress-induced fever in rats. *Physiol Behav*. [Internet]. 2001 [cited Jan 20, 2019];72(1-2):65-72. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938400003759?via%3Dihub>

27. Saia RS, Anselmo-Franci JA, Carnio EC. Hypothermia during endotoxemic shock in female mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Shock*. [Internet]. 2008 [cited Jan 20, 2019];29(1):119-26. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=17621253>
28. Zhou X, Potoka DA, Boyle P, Nadler EP, McGinnis K, Ford HR. Amino guanidine renders inducible nitric oxide synthase knockout mice more susceptible to *Salmonella typhimurium* infection. *FEMS Microbiology Letters*. [Internet]. 2002 [cited Jan 20, 2019];206(1):93-7. Available from: <https://academic.oup.com/femsle/article/206/1/93/621788>
29. Rudaya AY, Steiner AA, Eobbins JR, Dragic AS, Romanovsky AA. Thermoregulatory responses to lipopolysaccharide in the mouse: dependence on the dose and ambient temperature. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. [Internet]. 2005 [cited Jan 20, 2019];289(5):R1244-52. Available from: https://www.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpregu.00370.2005?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed
30. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. [Internet]. 2016 [cited Jan 20, 2019];315(8):801-10. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2492881>
31. Nolt B, Tu F, Wang X, Ha T, Winter R, Williams DL, et al. Lactate and immunosuppression in sepsis. *Shock*. [Internet]. 2018 [cited Jan 21, 2019];49(2):120-5. Available from: <https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=28767543>
32. Haas R, Smith J, Rocher-Ros V, Montero-Melendez T, D'Acquisto F, Bland EJ, et al. Lactate regulates metabolic and pro-inflammatory circuits in control of T cell migration and effector functions. *PLoS Biol*. [Internet]. 2015 [cited Jan 14, 2019];13(7):e1002202. Available from: [em:https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1002202](https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1002202)
33. Leite TC, Coelho RG, Da Silva D, Coelho WS, Marinho-Carvalho MM, Sola-Penna M. Lactate downregulates the glycolytic enzymes hexokinase and phosphofructokinase in diverse tissues from mice. *FEBS Lett*. [Internet]. 2011 [cited Jan 14, 2019];585(1):92-8. Available from: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.febslet.2010.11.009>
34. Zheng Z, Ma H, Zhang X, Tu F, Wang X, Ha T, et al. Enhanced glycolytic metabolism contributes to cardiac dysfunction in polymicrobial sepsis. *J Infect Dis*. [Internet]. 2017 [cited Jan 15, 2019];215(9):1396-406. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/jix138>
35. Xie M, Yu Y, Kang R, Zhu S, Yang L, Zeng L. PKM2-dependent glycolysis promotes NLRP3 and AIM2 inflammasome activation. *Nat Commun*. [Internet]. 2016 [cited Jan 18, 2019];7:13280. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncomms13280>
36. Yang L, Xie M, Yang M, Yu Y, Zhu S, Hou W, et al. PKM2 regulates the Warburg effect and promotes HMGB1 release in sepsis. *Nat Commun*. [Internet]. 2014 [cited Jan 18, 2019]; 5:4436. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncomms5436>
37. Puig-Kröger A, Pello OM, Muñoz-Pello O, Selgas R, Criado G, Bajo MA, et al. Peritoneal dialysis solutions inhibit the differentiation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells: effect of lactate and glucose-degradation products. *J Leukoc Biol*. [Internet]. 2003 [cited Jan 18, 2019];73(4):482-92. Available from: <https://jlb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1189/jlb.0902451>
38. Colegio OR, Chu NQ, Szabo AL, Chu T, Rhebergen AM, Jairam V. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature*. [Internet]. 2014 [cited Jan 18, 2019];513(7519):559-63. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature13490>
39. Fodor RS, Georgescu AM, Cioc AD, Grigorescu BL, Cotoi OS, Fodor P, et al. Time- and dose-dependent severity of lung injury in a rat model of sepsis. *Rom J Morphol Embryol*. [Internet]. 2015 [cited Jan 18, 2019];56(4):1329-37. Available from: <http://www.rjme.ro/RJME/resources/files/56041513291337.pdf>

Recibido: 06.05.2019

Aceptado: 12.03.2020

Editora Asociada:
 Maria Lúcia Zanetti

Copyright © 2020 Revista Latino-Americana de Enfermagem

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons CC BY.

Esta licencia permite a otros distribuir, mezclar, ajustar y construir a partir de su obra, incluso con fines comerciales, siempre que le sea reconocida la autoría de la creación original. Esta es la licencia más servicial de las ofrecidas. Recomendada para una máxima difusión y utilización de los materiales sujetos a la licencia.

Autor de correspondencia:

Evelin Capellari Carnio

E-mail: carnioec@eerp.usp.br

 <https://orcid.org/0000-0002-8735-4252>