El preconditionamiento isquémico previene la respuesta inflamatoria hepática al daño por isquemia-reperfusión pulmonar

Celia Muñoz Gómez

Facultad de Medicina UCM
celiamun@estumail.ucm.es

Elena Vara. Carlos M Simón.

Facultad de Medicina UCM
evaraami@ucm.es carlosmsa@telefonica.net

Resumen: Objetivo: El hígado es un importante regulador de la homeostasis. Se ha documentado que la isquemia reperusión (IR) en un tejido causa daño en otros órganos, como el hígado. Está demostrado que el preconditionamiento isquémico (PI) protege frente a la respuesta inflamatoria secundaria a la IR pulmonar. Este estudio fue diseñado para investigar un posible efecto protector del PI frente a la respuesta inflamatoria hepática secundaria a la IR. Métodos: Dos grupos (PI y control) de diez cerdos se sometieron a un autotrasplante de pulmón. En el grupo de estudio PI, antes de la intervención se indujo preconditionamiento isquémico. Durante la intervención se obtuvieron muestras de sangre y biopsias hepáticas. La expresión de IL1, IL-10, TNF α y NOS en las muestras se analizó mediante Western-Blotting. La actividad de la caspasa 3 fue determinada mediante ELISA. Los resultados de ambos grupos fueron comparados mediante test no paramétricos. Resultados: La IR pulmonar incrementó la expresión de IL1, TNF α y la actividad de la caspasa 3, y redujo los niveles de IL-10 en el grupo control respecto a los valores previos al autotrasplante. Este incremento de IL1, TNF α y la actividad de la caspasa 3 fue menos marcado en el grupo IP, además, se redujo el incremento de IL-10. No se observaron cambios en la expresión de iNOS. Conclusiones: PI podría prevenir el daño hepático inducido por la IR pulmonar disminuyendo los niveles de citoquinas proinflamatorias y de la apoptosis de los hepatocitos.

Palabras clave: Preconditionamiento isquémico. Isquemia-reperfusión. Hígado. Autotrasplante. Pulmón. Inflamación.

OBJETIVO

El fenómeno de IR pulmonar induce una respuesta inflamatoria local en el tejido pulmonar que se caracteriza por daño alveolar inespecífico, edema de pulmón e

hipoxemia. Muchos mediadores distintos han sido implicados en la patogenia del daño pulmonar por IR, y muchos autores han mostrado que el incremento de biomarcadores en el pulmón se debe a complicaciones en el postoperatorio y a una mala recuperación tras el mismo ^(1,2). La IR pulmonar también puede inducir una respuesta inflamatoria sistémica que causa daños a órganos distantes; esta respuesta sistémica causa mayor daño que los efectos locales. El hígado es particularmente sensible a la circulación de mediadores inflamatorios que ocurre tras la IR en órganos a distancia, tales como el riñón ⁽³⁻⁵⁾, el intestino ⁽⁶⁾ y el músculo esquelético ^(7,8).

Se ha comprobado que el PI protege muchos órganos frente al daño por IR.

El preconditionamiento isquémico remoto (RIPC), se define como la inducción de PI mediante la repetición de episodios isquémicos en un órgano que está alejado del órgano que ha de ser protegido. Recientemente, RIPC ha sido propuesto como una herramienta quirúrgica para prevenir la isquemia cardiaca, hepática o cerebral. Sin embargo, se conoce poco de los efectos de la PI en la respuesta hepática a la IR. El objetivo de este estudio fue investigar un posible efecto protector del PI contra la respuesta inflamatoria hepática secundaria al fenómeno de IR.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dos grupos (grupo control-C y grupo PI) de diez cerdos de la raza large-white fueron sometidos a un autotrasplante de pulmón. Dicho autotrasplante se realizó mediante una pneumectomía izquierda, seguida de una lobectomía superior ex-situ, y de una reimplantación del lóbulo inferior. Antes de realizar la pneumectomía, se indujo preconditionamiento isquémico en el grupo PI, mediante dos ciclos de 5 minutos de duración de oclusión de la arteria pulmonar izquierda con 5 minutos de intervalo de reperfusión entre ambos ciclos de oclusión. Durante la intervención se obtuvieron muestras de sangre y biopsias hepáticas, en 4 momentos: 1) Antes de la pneumectomía, 2) antes de la reperfusión, 3) 10 minutos después de la reperfusión del lóbulo implantado y 4) 30 minutos después de la reperfusión. La expresión de IL1, IL-10, TNF α y NOS en las muestras hepáticas fueron analizados mediante Western-Blotting. La actividad de la caspasa 3 fue determinada mediante test ELISA. Después, se compararon los resultados obtenidos en ambos grupos mediante test no paramétricos.

RESULTADOS

La IR pulmonar incrementó marcadamente la expresión de TNF α ($p < 0,01$), IL-1 ($p < 0,05$) y la actividad de la caspasa 3 ($p < 0,05$) en las muestras del grupo C comparadas con los niveles previos a la neumectomía. La expresión de IL-10 solo mostró cambios 30 minutos después de la reperfusión ($p < 0,05$). En las muestras del

grupo PI, la expresión de TNF α ($p < 0,01$) y de IL-1 ($p < 0,05$), y la actividad de la caspasa 3 ($p < 0,05$) fueron menores después de la reperfusión en comparación con los niveles del grupo C. PI revirtió el descenso observado en la expresión de IL-10 ($p < 0,05$) inducido en el tejido hepático mediante la IR pulmonar. No se encontraron cambios en la expresión de iNOS.

DISCUSIÓN

Se sabe que, después de algunas intervenciones quirúrgicas cardíacas o pulmonares, la IR pulmonar puede causar disfunción pulmonar y que incrementa la morbilidad y mortalidad perioperatoria. Además, la IR inducen una respuesta inflamatoria sistémica, así como múltiples síndromes de disfunción orgánica, lo que es potencialmente más perjudicial que los efectos locales.

Algunos estudios han investigado los efectos del daño en órganos distantes por IR pulmonar. Esme et al, mostró que la IR pulmonar induce daño hepático en conejos ⁽⁹⁾. En ese estudio, una isquemia de 60 minutos de duración seguida de una reperfusión de 60 minutos del tejido pulmonar fue suficiente para incrementar la actividad de la mieloperoxidasa hepática, y con ello el reclutamiento de neutrófilos al hígado.

Además, también observaron un incremento de los marcadores de estrés oxidativo en el tejido hepático después de la IR pulmonar. De forma similar, en el presente experimento, la IR pulmonar indujo una respuesta inflamatoria hepática a distancia, que se observa por el incremento de la expresión de citosinas proinflamatorias TNF α , IL1 y MCP1 en los hígados de los animales de control.

Además, observamos que la IR pulmonar indujo una progresiva disminución en la expresión de mRNA de IL10 en los hígados de los cerdos del grupo control, lo que refleja un incremento del desequilibrio entre la producción de citoquinas proinflamatorias y de anti-inflamatorias. Estos resultados concuerdan con otros estudios que han sugerido que la IR en órganos distantes, como el riñón ^(3,5), intestino ⁽⁶⁾ y miembros ⁽⁰⁻¹²⁾, puede inducir la liberación de citoquinas y otros mediadores inflamatorios por parte de las células hepáticas. Podemos especular que el daño por IR pulmonar podría iniciar una cascada de vías proinflamatorias que facilitan el daño en órganos a distancia.

Se podría decir lo mismo de la activación de las vías apoptóticas. Algunos autores han comprobado que la IR puede inducir apoptosis en órganos a distancia, como el corazón ⁽⁴⁾, el hígado ⁽¹³⁾, y los pulmones ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Estos resultados concuerdan con nuestro estudio, ya que en el mismo, la caspasa 3 incrementó su actividad durante el procedimiento en los hígados del grupo control hasta casi alcanzar los máximos niveles que se obtuvieron en las muestras del grupo PI 30 minutos después de la reperfusión. A la luz de estos hechos, se puede conceder que los mediadores inflamatorios

producidos en la isquemia pulmonar circulan tras la reperfusión e inducen respuestas inflamatorias y apoptóticas en el hígado.

Se ha comprobado que el PI directo reduce el daño por IR pulmonar experimental y clínico⁽¹⁷⁾. El presente estudio demuestra que el PI pulmonar reduce las respuestas inflamatoria y apoptótica inducidas en el hígado por la IR pulmonar. A la luz de estos resultados, podemos especular que los beneficios de PI en la inducción de una respuesta inflamatoria sistémica por la IR pulmonar se podrían reflejar en una protección de ambos pulmones y órganos remotos. De hecho, el PI remoto ha sido propuesto recientemente como un método de prevención frente al daño por IR.

CONCLUSIONES

En conclusión, el preconditionamiento isquémico podría prevenir el daño hepático inducido por la IR pulmonar mediante la disminución de citoquinas proinflamatorias y de la apoptosis de los hepatocitos.

BIBLIOGRAFÍA

1. De Conno E, Steurer M, Wittlinger M, Zalunardo M, Weder W, Schneiter D et al. Anesthetic induced improvement of the inflammatory response to one-lung ventilation. *Anesthesiology* 2009;110:1316–1326.
2. Misthos P, Katsaragkis S, Theodorou D, Milingos N, Skottis I. The degree of oxidative stress is associated with major adverse effects after lung resection: a prospective study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;29:591–595.
3. Kielar ML, Rohan Jeyarajah D, Lu CY. The regulation of ischemic acute renal failure by extrarenal organs. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11:451–457.
4. Kelly KJ. Distant effects of experimental renal ischemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1549–1558.
5. Golab F, Kadkhodae M, Zahmatkesh M, Hedayati M, Arab H, Schuster R et al. Ischemic and non-ischemic acute kidney injury cause hepatic damage. *Kidney Int* 2009;75:783–792.
6. Horie Y, Ishii H. Liver dysfunction elicited by gut ischemia-reperfusion. *Pathophysiology* 2001;8:11-20.

7. Kanoria S, Jalan R, Davies NA, Seifalian AM, Williams R, Davidson BR. Remote ischaemic preconditioning of the hind limb reduces experimental liver warm ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 2006;93:762-768.
8. Lai IR, Chang KJ, Chen CF, Tsai HW. Transient limb ischemia induces remote preconditioning in liver among rats: The protective role of heme oxygenase-1. *Transplantation* 2006;81:1311-1317.
9. Esme H, Fidan H, Koken T, Solak O. Effect of lung ischemia-reperfusion on oxidative stress parameters of remote tissues. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006;29:294-298.
10. Brock RW, Lawlor DK, Harris KA, Potter RF. Initiation of remote hepatic injury in the rat: interactions between Kupffer cells, tumor necrosis factor-alpha, and microvascular perfusion. *Hepatology* 1999;30:137-142
11. Yassin MM, Harkin DW, Barros D'Sa AA, Halliday MI, Rowlands BJ. Lower limb ischemiareperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J Surg* 2002;26:115-121.
12. Henrion J, Deltenre P, De Maeght S, Peny MO, Schapira M. Acute lower limb ischemia as a triggering condition in hypoxic hepatitis: a study of five cases. *J Clin Gastroenterol* 2011;45:274-277.
13. McCarter SD, Akyea TG, Lu X, Bihari A, Scott JR, Badhwar A et al. Endogenous hemeoxygenase induction is a critical mechanism attenuating apoptosis and restoring microvascular perfusion following limb ischemia/reperfusion. *Surgery* 2004;136:67-75.
14. Cui T, Miksa M, Wu R, Komura H, Zhou M, Dong W et al. Milk fat globule epidermal growth factor 8 attenuates acute lung injury in mice after intestinal ischemia and reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:238-246.
15. An S, Hishikawa Y, Liu J, Koji T. Lung injury after ischemia-reperfusion of small intestine in rats involves apoptosis of type II alveolar epithelial cells mediated by TNF-alpha and activation of Bid pathway. *Apoptosis* 2007;12:1989-2001.
16. Collange O, Fabienne T, Nathalie R, Christian T, Vincent R, Bertrand D et al. Pulmonary apoptosis after supraceliac aorta clamping in a rat model. *J Surg Res* 2005;129:190-195

17. Simón C, Vara E, Garutti I, González-Casaurrán G, Azcárate L, Isea J et al. Modulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression by ischaemic preconditioning in a lung autotransplant model. *Eur J CardiothoracSurg* 2012;41:933–939

Recibido: 7 noviembre 2013.

Aceptado: 24 febrero 2014.