

Potenciación por sevoflurano de la respuesta inflamatoria hepática secundaria a isquemia-reperfusión pulmonar

Carlos Alberto Calvo García

Medicina. Universidad Complutense de Madrid.
carlosac@estumail.ucm.es

Elena Vara. Lisa Rancan.

Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III.
evaraami@med.ucm.es, lisa_rancan@hotmail.com

Resumen: El daño por isquemia reperfundida (IRI) induce respuesta inflamatoria. Varias investigaciones señalan que cualquier IRI causa daño en órganos a distancia como el hígado. El presente estudio fue diseñado para investigar un posible efecto protector del sevoflurano (SEV) contra la respuesta inflamatoria del hígado a la isquemia-reperfundida del pulmón (LIR). Para el experimento se sometió a un autotrasplante de pulmón izquierdo a dos grupos de 8 cerdos large-white. El mantenimiento hipnótico se llevó a cabo con SEV 4% (grupo SEV) o propofol 10 mg/Kg/h (grupo CON) hasta que se realizó la neumonectomía. Una vez hecha, se utilizó propofol en los dos grupos. Las muestras de sangre y tejido fueron tomadas en 4 tiempos: pre-neumonectomía, pre-reperfundida, 10' post-reperfundida y 30' post-reperfundida con el fin de medir los niveles IL-1 β , IL-10, TNF α , MCP-1 y caspasa 3. Para la significación estadística se utilizó un test no-paramétrico. La LIR incrementó notablemente la expresión de TNF α , IL-1 β , MCP-1, NFKB y la actividad caspasa 3 en los controles en comparación con los niveles pre-neumonectomía. Sin embargo, la expresión hepática de IL-10 solo cambió tras 30' post-reperfundida. El SEV disminuyó significativamente la expresión hepática de TNF α , IL-1 β , MCP-1, y la actividad caspasa 3 en comparación con el grupo control. El SEV también revirtió la disminución de la expresión de IL-10 inducida por la LIR. Conclusión, los presentes resultados indican que la LIR causa daño en tejidos a distancia como el hígado. El sevoflurano atenúa el daño hepático producido por la LIR en un modelo de autotrasplante pulmonar en cerdos.

Palabras clave: Sevoflurano. Autotrasplante. Pulmón. Isquemia-reperfundida. Hígado.

INTRODUCCIÓN

La restricción del aporte sanguíneo en un órgano seguida de la subsecuente restauración de la perfusión y concomitante reoxigenación produce una condición

patológica conocida como daño por isquemia-reperfusión (IRI). Cuando este fenómeno implica directamente al hígado, como por ejemplo durante los trasplantes y cirugías hepáticas, se compromete su viabilidad^(1,2). Pero esto no es todo, sino que incluso cuando órganos a distancia como el riñón^(3,4), intestino^(5,6) y músculos esqueléticos^(7, 8) son sometidos a fenómenos de isquemia y perfusión (IR), el hígado se afecta debido a su particular sensibilidad a los mediadores inflamatorios circulantes.

La isquemia-reperfusión de pulmón (LIR) induce una respuesta inflamatoria local y sistémica que cursa con daño en órganos a distancia como el hígado, como sugiere un reciente estudio experimental en ratones. Así, una vez que se produce la LIR y el hígado sufre sus consecuencias, es necesario que el tratamiento se centre tanto en la respuesta local como en la respuesta a distancia inducida por la LIR. Por ello, se han desarrollado con relativo éxito diferentes métodos para mitigar el IRI; uno de ellos es el preconditionamiento anestésico (APC) con anestésicos volátiles.

OBJETIVO

Investigar la respuesta inflamatoria del hígado a la LIR y evaluar un posible efecto protector del sevoflurano en un modelo de autotrasplante pulmonar en cerdos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para alcanzar nuestro objetivo hemos diseñado una muestra con 2 grupos (sevoflurano y control) de 8 cerdos raza large-white que fueron sometidos a un autotrasplante del pulmón izquierdo. El mantenimiento anestésico se llevó a cabo con sevoflurano 4% (grupo SEV) o con propofol (grupo CON) hasta que se realizó la neumonectomía. Una vez hecha, se utilizó propofol en los dos grupos.

Las muestras de sangre y tejido fueron tomadas en cuatro momentos diferentes: pre-neumonectomía, pre-reperfusión, 10' post-reperfusión y 30' post-reperfusión con el fin de medir mediante técnicas de biología molecular (PCR y Western-Blot) los niveles de IL-1 β , IL-10, TNF- α , MCP-1 y caspasa 3.

Los datos han sido expresados como la media y error estándar de la media (SEM). Para la significación estadística se han utilizado test no-paramétricos (test Mann-Whitney U). Además, para estudiar la evolución de los valores intragrupo se ha utilizado un test Wilcoxon para datos pares. Se considera como estadísticamente significativo una $p < 0,05$. En este estudio se ha utilizado el paquete estadístico SPSS versión 14.0.

RESULTADOS

La LIR incrementó notablemente la expresión de IL-1 β mRNA en los momentos pre-reperusión (PRp), 10' post-reperusión (10'-Rp) y 30' post-reperusión (30'-Rp) del grupo CON pero no en los hígados SHAM ($p < 0,05$). También se incrementó la expresión de IL-1 β mRNA en 10' post-reperusión y 30' post-reperusión en el grupo SEV. La LIR también incrementó notablemente la expresión proteica de IL-1 β en grupo CON en comparación con los niveles pre-neumonectomía (PNn) en el grupo CON ($p < 0,05$) y con los niveles SHAM ($p < 0,05$). Este ascenso fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que el observado en grupo SEV en 10'-Rp y 30'-Rp.

La expresión de TNF- α mRNA en tejido hepático se incrementó en PRp en el grupo CON pero no en los grupos SHAM o SEV ($p < 0,05$). La LIR también incrementó notablemente la expresión de TNF- α en grupo CON en comparación con los niveles PNn ($p < 0,05$) y con los niveles SHAM ($p < 0,05$). Nuevamente, este ascenso fue significativamente más alto ($p < 0,05$) que el observado en el grupo SEV en PRp, 10'-Rp y 30'-Rp. Por el contrario, después de la reperusión pulmonar se observó en el hígado un descenso de la expresión de IL-1 β mRNA en el grupo CON pero no en los hígados de los grupos SEV o SHAM ($p < 0,05$). No se observaron diferencias significativas en la expresión proteica de IL-10.

La LIR también incrementó notablemente la expresión de MCP-1 mRNA en tejido hepático en PRp, 10'-Rp y 30'-Rp en comparación con los niveles PNn ($p < 0,05$). Estos incrementos no fueron observados en los grupos SEV y SHAM.

Por último, la LIR incrementó notablemente la actividad de la caspasa 3 en el tejido hepático del grupo CON en PRp, 10'-Rp y 30'-Rp en comparación con los niveles PNn ($p < 0,05$). Este aumento no fue observado en los grupos SEV y SHAM.

DISCUSIÓN

Se ha demostrado que el IRI no solo afecta a órganos locales, sino que causa una respuesta inflamatoria que puede afectar a órganos distantes también. La hipoxia se asocia con un daño de la función endotelial y con un aumento de la permeabilidad vascular acompañadas de un proceso inflamatorio. Además, la IR conduce a la activación de los programas de muerte celular, incluyendo apoptosis, autofagia asociada a células muertas y necrosis⁽⁹⁾.

En nuestro estudio hemos podido observar un incremento en los niveles de proteínas y expresión del mRNA de dos citoquinas inflamatorias, IL-1 β y TNF- α , en el grupo CON comparado con el grupo SHAM. Además, los niveles proteicos de IL-1 β y TNF- α así como la expresión de mRNA se incrementaron después de la reperusión.

Varios estudios han demostrado que MCP-1 es la principal citoquina responsable de reclutar monocitos y células epiteliales al foco inflamatorio^(10, 11). Sin embargo, MCP-1 también interviene en la modulación de la microcirculación⁽¹³⁾; En nuestro estudio hemos podido observar que la LIR incrementa notablemente la expresión de MCP-1 mRNA en tejido hepático en 10'-Rp y 30'-Rp ($p < 0,05$) en comparación con los niveles antes de la neumonectomía.

IL-10 es considerada la citoquina inmunosupresora por excelencia al disminuir la respuesta inflamatoria. Actúa sobre los macrófagos suprimiendo la secreción de citoquinas proinflamatorias e incrementando la producción de inhibidores de citoquinas. En nuestra investigación, pudimos observar un descenso progresivo de los niveles de IL-10 mRNA en el grupo CON comparado con el grupo SHAM, reflejando un creciente desequilibrio entre la producción de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias.

De acuerdo con trabajos de otros autores⁽¹⁴⁾, estos resultados sugieren que la LIR no es solo un proceso local, sino que como consecuencia de la entrada de mediadores inflamatorios en la circulación sistémica el hígado se ve afectado.

Nuestros resultados también confirman la capacidad del APC con sevoflurano para inhibir la liberación de TNF- α , incluso en órganos a distancia. Ya que efectivamente, los niveles hepáticos de proteína y expresión de mRNA de TNF- α del grupo SEV fueron menores que los del grupo CON. Pero además, la actividad del sevoflurano no se limita exclusivamente al TNF- α , sino que los niveles hepáticos de proteína y expresión de IL-1 β del grupo SEV fueron menores que los obtenidos en el grupo CON. De la misma forma, el APC con sevoflurano ha sido capaz de reducir la expresión del MCP-1 mRNA. Así, estos resultados muestran que la administración de sevoflurano antes del daño isquémico atenúa la respuesta inflamatoria secundaria a la LIR del hígado.

Los niveles de caspasa 3 fueron mayores en el grupo CON a los 30' y 10'-Rp, sugiriendo la posibilidad de que la apoptosis hepática podría ser consecuencia del daño inflamatorio. En efecto, en el grupo SEV los niveles de caspasa 3 no fueron significativamente diferentes a los obtenidos en el grupo SHAM, lo que sugiere que el APC con sevoflurano no solo es capaz de manejar el desequilibrio inflamatorio que tiene lugar en el hígado cuando se lleva a cabo el trasplante de pulmón, sino que también podría reducir la apoptosis hepática secundaria a la LIR.

CONCLUSIONES

En resumen, los presentes resultados indican que la LIR causa daño en tejidos a distancia como el hígado. Por ello, el APC con SEV podría ser útil para reducir la respuesta hepática a la isquemia-reperfusión del pulmón.

BIBLIOGRAFÍA

1. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001; 181:160-166.
2. Powner DJ. Factors during donor care that may affect liver transplantation outcome. *Prog Transplant* 2004;14:241-247; quiz 248-249.
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. Horie Y, Ishii H. Liver dysfunction elicited by gut ischemia-reperfusion. *Pathophysiology* 2001;8:11-20.
6. Golab F, Kadkhodae M, Zahmatkesh M, Hedayati M, Arab H, Schuster R, Zahedi K, et al. Ischemic and non-ischemic acute kidney injury cause hepatic damage. *Kidney Int* 2009;75:783-792.
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. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med* 2011;17:1391-1401.
10. Gunn MD, Nelken NA, Liao X, Williams LT. Monocyte chemoattractant protein-1 is sufficient for the chemotaxis of monocytes and lymphocytes in transgenic mice but requires an additional stimulus for inflammatory activation. *J Immunol* 1997;158:376-383.
11. Maus U, Herold S, Muth H, Maus R, Ermert L, Ermert M, Weissmann N, et al. Monocytes recruited into the alveolar air space of mice show a monocytic phenotype but upregulate CD14. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L58-68.
12. Yamaguchi Y, Matsumura F, Liang J, Okabe K, Ohshiro H, Ishihara K, Matsuda T, et al. Neutrophil elastase and oxygen radicals enhance monocyte

chemoattractant protein- expression after ischemia/reperfusion in rat liver. Transplantation 1999;68:1459-1468.

13. Bajt ML, Farhood A, Jaeschke H. Effects of CXC chemokines on neutrophil activation and sequestration in hepatic vasculature. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001;281:G1188-1195.
14. 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.

Recibido: 7 noviembre 2013.

Aceptado: 24 febrero 2014.