

Caracterización bioquímica y niveles de lipoperoxidación en el preacondicionamiento hepático

Eduardo Esteban Montalvo-Javé, * ***Marco Antonio García-Puig,*
Tomás Escalante-Tattersfield, *** Julieta Peña-Sánchez, & Héctor Vázquez-Meza, ††
José Arturo Ortega-Salgado †††

Resumen

Introducción: La cirugía hepática requiere en diversas circunstancias de periodos de isquemia y reperfusión, como los que se presentan en las resecciones de hígado, trauma y trasplante hepático. Objetivo: realizar un estudio experimental para evaluar el efecto del preacondicionamiento hepático en la modulación del fenómeno de isquemia-reperfusión.

Material y métodos: Se emplearon ratas Wistar macho, distribuidas en tres grupos de estudio: grupo 1, simulado; grupo 2, sometido a periodo de isquemia caliente total por 30 minutos y fase de reperfusión; grupo 3, preacondicionamiento por 10 minutos de isquemia caliente y 10 minutos de reperfusión, previo al periodo de isquemia hepática total por 60 minutos y la fase de reperfusión. Se realizaron tomas de biopsias hepáticas para análisis espectrofotométrico del aducto de malondialdehído ácido tiobarbitúrico y, por muestras sanguíneas, determinaciones de enzimas hepáticas en suero como deshidrogenasa láctica y transaminasas (ALT y AST) en un curso temporal de 24 horas.

Resultados: En el grupo 3 se observó disminución de las enzimas hepáticas en suero y de los niveles de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico como marcadores indirectos de estrés oxidativo al compararlos con el grupo 2 sometido a isquemia-reperfusión hepática total.

Conclusiones: El preacondicionamiento hepático es una estrategia quirúrgica eficaz para disminuir la elevación de las enzimas hepáticas y los indicadores indirectos de lipoperoxidación en un modelo de isquemia y reperfusión, y deben realizarse estudios clínicos controlados para determinar su aplicación clínica.

Palabras clave: Preacondicionamiento hepático, isquemia reperfusión, ácido tiobarbitúrico, trasplante, hígado, enzimas hepáticas, radicales libres.

Abstract

Background: Hepatic surgery requires, under diverse circumstances, periods of ischemia and reperfusion (I-R) such as those present in liver resection, hepatic injury, and liver transplantation. The objective of the present work was to conduct an experimental study to evaluate the effect of hepatic preconditioning (HPC) on modulation of the I-R injury.

Methods: Male Wistar rats were distributed into the following three study groups: group 1, simulated or sham; group 2, submitted to a 30-min period of total warm ischemia and a reperfusion phase, and group 3, in which we carried out 10-min preconditioning of warm ischemia and 10 min of reperfusion prior to the total ischemia period for a total of 60 min and the reperfusion phase. We obtained liver biopsies for thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (MDA, thiobarbituric acid adducts) and for blood sample determinations in serum of liver-cell enzymes such as alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase during a 24-h time course.

Results: We observed a decrease in the variables studied in group 3 (HPC) as well as of serum liver enzymes and TBARS levels such as indirect oxidative stress indicators upon comparison with group 2 animals submitted to total hepatic I-R.

Conclusions: HPC is an efficient surgical strategy for decreasing the elevation of hepatic enzymes and indirect lipoperoxidation indicators in an I-R model. Controlled clinical studies should be performed to determine its functional properties and clinical applicability.

Key words: Ischemia-reperfusion injury, liver preconditioning, serum hepatic enzymes, free radicals.

* Unidad 304, Servicio de Cirugía General, Hospital General de México, Secretaría de Salud, México, D.F.

** Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, D.F.

*** Unidad 303, Servicio de Cirugía General, Hospital General de México, Secretaría de Salud, México, D. F.

& Departamento de Biología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

†† Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.

††† Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, UNAM.

Correspondencia:

Eduardo E. Montalvo-Javé.

Unidad 304, Servicio de Cirugía General, Hospital General de México,
Dr. Balmis 148, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc 06726 México, D. F.
Tel.: (55) 2789 2000, extensión 1250.

E-mail: montalvoeduardo@hotmail.com

Recibido para publicación: 22-09-2010

Aceptado para publicación: 17-11-2010

Introducción

La interrupción del aporte sanguíneo, con la subsecuente ausencia en el aporte de oxígeno y nutrientes, es un fenómeno inherente a la manipulación de un órgano en diversos procedimientos quirúrgicos. Respecto al hígado existen situaciones clínicas en las que los períodos de isquemia pueden ser particularmente prolongados, como cuando se realiza resección de neoplasias,¹ cuando se tratan traumatismos hepáticos de diversos grados de severidad,² cuando se realizan reconstrucciones vasculares y cuando se obtiene un hígado para trasplante.^{3,4} Al restablecer el flujo de sangre y de oxígeno, la reperfusión acentúa la lesión provocada por el periodo de isquemia, con lo que se agrava de manera considerable la magnitud del daño tisular. Este fenómeno, conocido como lesión por isquemia-reperfusión, repercute directamente en la viabilidad del hígado, particularmente, el destinado para trasplante.⁵ Al reinstalar el flujo de sangre en el hígado isquémico, la reperfusión favorece la falla en la microcirculación prolongando el periodo isquémico por una serie de diversos mecanismos, entre los que destacan el edema de la célula endotelial, la vasoconstricción, el atrapamiento de leucocitos y la agregación plaquetaria dentro de los sinusoides hepáticos.⁶

Durante el periodo isquémico, la ausencia de sustrato energético interfiere con el transporte activo transmembranal, con lo que favorece el edema de las células de Kupffer y de las células endoteliales. La pérdida del equilibrio entre la acción vasodilatadora del óxido nítrico y la vasoconstricción producida por la endotelina favorece la disminución del diámetro de los capilares sinusoidales, disminuyendo la velocidad del flujo de los leucocitos y aproximándolos a la pared capilar. El aumento en el contacto entre los leucocitos y las células endoteliales por esta vasoconstricción acentúa la leucostasis, aunque los leucocitos no ocluyen por completo la luz capilar, que compromete la microcirculación al interferir con el flujo adecuado de sangre por los capilares sinusoidales.⁷ Esta falla en la microcirculación impide la perfusión de todo el tejido a pesar de la reinstalación del flujo sanguíneo, provocando áreas isquémicas a pesar de la reperfusión, en un fenómeno conocido como “no reflujo”. La isquemia provoca la activación de las células de Kupffer y de los neutrófilos, produciendo y liberando citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (NFT α), interleucinas (IL) proinflamatorias como IL-6 e IL-1, prostaglandinas y radicales libres o especies reactivas al oxígeno, particularmente O₂⁻ y H₂O₂.⁶

Los radicales libres forman parte de las especies reactivas al oxígeno, son átomos con un electrón desapareado en su orbital externo, lo que los hace muy reactivos. Los radicales libres de oxígeno, o especies reactivas al oxígeno, incluyen al anión superóxido (O₂⁻), el radical hidroxilo (OH⁻)

y sus derivados como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) carecen de una actividad específica mediada por receptores y ejercen su reactividad química con cualquier compuesto que encuentren; en situaciones normales, el metabolismo aeróbico genera especies reactivas al oxígeno, las cuales se neutralizan por diversos mecanismos antioxidantes.⁸

En situaciones de estrés, el equilibrio entre los factores antioxidantes y los oxidantes se altera; los últimos son los que prevalecen. Este fenómeno, planteado en 1985 por Sies como “estrés oxidativo”, genera diferentes grados de citotoxicidad que lesiona al ADN, a las proteínas, a los lípidos y a los carbohidratos.⁹ Si la severidad del estrés oxidativo es muy grande, todas las estructuras celulares importantes (particularmente las mitocondrias y proteínas del citoesqueleto), las macromoléculas (ADN, lípidos, enzimas) y las vías metabólicas se oxidan, se lesionan y posteriormente son bloqueadas o inhibidas, dando lugar a la muerte celular por necrosis. Si la intensidad del estrés es significativamente menor, lo suficiente para no inhibir las funciones mitocondriales o para no inactivar a las caspasas, entonces las células sufren apoptosis. En la membrana celular, las moléculas diana del estrés oxidativo son los ácidos grasos poliinsaturados, lo que altera la funcionalidad de la membrana.

Debido a que la detección de las especies reactivas al oxígeno es muy difícil por su corta vida media, en la práctica se utilizan indicadores químicos indirectos para su cuantificación. Normalmente se determinan los productos de reacción de las especies reactivas al oxígeno con los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares (lipoperoxidación) como el malondialdehído y las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico. Mediante la determinación de estos indicadores se ha observado una asociación fenomenológica entre el estrés oxidativo y la isquemia-reperfusión.

La morbilidad asociada con el trasplante de hígado, las resecciones hepáticas mayores y los traumatismos hepáticos son en gran parte resultado de los fenómenos involucrados tanto en la isquemia-reperfusión como de los efectos lesivos de la congestión venosa en el lecho esplácnico, que favorece también el paso de bacterias al intestino a través de la barrera intestinal intacta. Las enzimas de escape en el hígado son un parámetro indirecto para evaluar la intensidad de la lesión hepática en el posoperatorio, como los valores séricos de aspartato aminotransferasa (AST), alanina transferasa (ALT) y deshidrogenasa láctica (DHL). La medición de malondialdehído es una técnica útil para inferir la intensidad de la lesión inducida por especies reactivas al oxígeno provenientes tanto del hígado (producida por la isquemia-reperfusión), como del intestino (secundaria a la congestión esplácnica). Por lo tanto, evitar la congestión esplácnica en el proceso de isquemia-reperfusión hepática disminuirá los marcadores indirectos de daño oxidativo hepático.

La isquemia-reperfusión presenta, en diversos grados, una lesión que puede ocasionar complicaciones severas, incluso falla hepática, sistémica o la muerte.¹⁰ Se han planteado diversas estrategias para proteger el hígado y disminuir los efectos de la lesión por isquemia-reperfusión, para tratar de modular el periodo de isquemia hepática de tal forma que lo tolere el paciente y encontrar una respuesta al daño hipóxico y a los efectos de la reperfusión del hígado.¹¹ Una de estas modalidades como estrategia quirúrgica es denominada *preacondicionamiento hepático*,^{12,13} que consiste en la inducción de breves periodos de isquemia, previos al evento isquémico, en el procedimiento quirúrgico hepático, con el fin de disminuir los efectos de la fase de reperfusión, de la actividad de especies reactivas al oxígeno y de la respuesta inflamatoria.¹⁴

Realizamos un estudio experimental para evaluar el efecto del preacondicionamiento hepático en la modulación de la lesión hepática en el fenómeno de isquemia-reperfusión, al comparar la elevación de las enzimas hepáticas AST, ALT y DHL y en los indicadores indirectos de lipoperoxidación (malondialdehído) en un modelo experimental de isquemia hepática total comparada con preacondicionamiento hepático durante el curso de 24 horas.

Material y métodos

Se utilizó un modelo experimental compuesto por machos de ratas cepa Wistar, siguiendo los lineamientos de la *Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999* sobre las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

El presente estudio experimental se realizó del 1 de febrero de 2005 al 30 de marzo de 2006 previa aprobación del protocolo de investigación por el Comité de Ética y del Subcomité del Manejo de Animales de Laboratorio, de la Dirección de Investigación del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, en la Ciudad de México.

Se emplearon 220 ratas con peso corporal entre 250 y 350 g, alimentadas con dieta comercial estándar y agua *ad libitum*, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas y un control de temperatura constante a 22 °C. Fueron distribuidas de manera aleatoria en tres grupos de estudio (n = 20): grupo simulado y dos grupos problema, uno con isquemia hepática total y otro con preacondicionamiento hepático. Se realizó preacondicionamiento que consistió en un periodo de 10 minutos de isquemia y 10 minutos de reperfusión. Las ratas fueron anestesiadas con xilacina (100 mg/kg) y ketamina (13 mg/kg), intraperitoneal. Se realizó una tricotomía de la pared anterior y una laparotomía media supra e infraumbilical por planos hasta llegar a la cavidad abdominal.

Se tomaron las muestras para biopsia hepática (0.5 g aproximadamente) de tejido hepático del lóbulo mediano con bisturí convencional para la determinación de malondialdehído, y 1.0 ml de sangre de la vena cava inferior para el estudio de las enzimas hepáticas, a la hora y a las 2, 4, 8, 12 y 24 horas, respectivamente.

Grupo 1 (simulado)

Se realizó la incisión abdominal previa anestesia general y se tomaron las biopsias hepáticas y muestras de sangre para las determinaciones séricas de la vena cava inferior con jeringa de insulina, tras lo cual se irrigó la cavidad con 1 ml de solución salina estéril a 0.9% y se cerró la laparotomía en un solo plano con material sintético no absorbible. Se trasladó a las ratas a una cuna térmica.

Grupo 2

En la cavidad abdominal se identificó la triada portal y se realizó pinzamiento vascular que ocluía el flujo portal y de la arteria hepática por 30 minutos, para producir el periodo de isquemia total hepática (figura 1). Al concluir este tiempo se retiró el pinzamiento con lo que se inició la fase de reperfusión y se irrigó la cavidad con 1 ml de solución salina estéril a 0.9% y se cerró la laparotomía en un solo plano con material sintético no absorbible. Se trasladó a las ratas a un colchón térmico. Previo al cierre de la cavidad se tomaron 0.5 g de tejido hepático del lóbulo mediano con bisturí convencional, para la determinación de malondialdehído y muestras sanguíneas de la vena cava inferior para el estudio de las enzimas hepáticas.

Grupo 3

Se realizaron los mismos pasos de los animales del grupo 2 hasta el momento de la isquemia total hepática, pero se efectuó con periodo de isquemia total por 10 minutos y 10 minutos de reperfusión, para iniciar un periodo de isquemia total de 30 minutos, posteriormente se retiró el pinzamiento vascular para iniciar el periodo de reperfusión, corroborando la correcta irrigación del hígado. Se cerró la cavidad conforme la misma secuencia.

Previo al cierre de la cavidad se tomaron 0.5 g de tejido hepático del lóbulo mediano, con bisturí convencional, para la determinación de malondialdehído y muestras sanguíneas de la vena cava inferior para el estudio de las enzimas hepáticas.

Las muestras obtenidas de sangre y tejido hepático de cada rata fueron destinadas para la determinación de en-

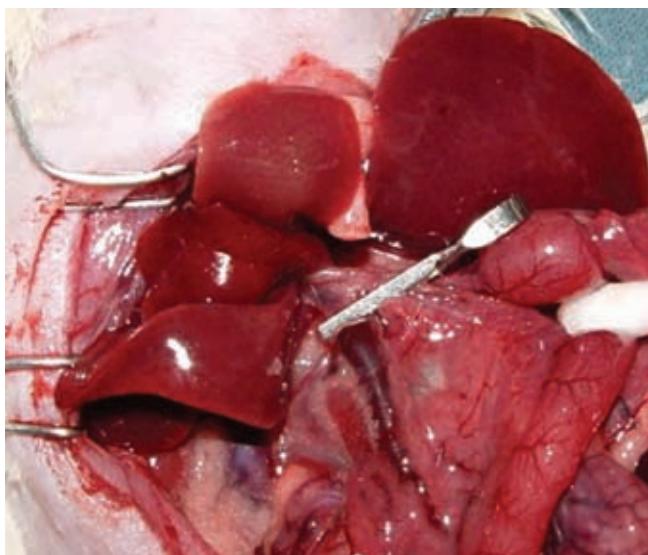


Figura 1. Procedimiento quirúrgico para producir isquemia hepática total en la rata, al realizar pinzamiento vascular de la vena porta y de la arteria hepática.

zimas e indicadores de lipoperoxidación, respectivamente, como se indica a continuación:

- **Enzimas hepáticas (AST, ALT y DHL):** las muestras de sangre fueron centrifugadas inmediatamente después de su extracción a 10 000 rpm por un lapso de 10 minutos. El plasma sobrenadante fue extraído y congelado a -70°C. Una vez reunidas las muestras, el plasma fue descongelado a temperatura ambiente y procesado con un espectrofotómetro marca Siemens con reactivos específicos para AST, ALT y DHL (Bayer, México). Los resultados fueron indicados en UI/ml.
- **Lipoperoxidación:** las muestras de 0.5 g de tejido hepático fueron enfriadas inmediatamente después de su obtención con agua a 4 °C, para ser lavadas con suero fisiológico y homogenizadas en un amortiguador de fosfatos. Para el patrón de la curva de calibración se empleó un análogo químico del malondialdehído, el ácido tiobarbitúrico (Sigma Chemical, USA). La reacción se desarrolló durante 45 minutos con vapor caliente. A continuación se añadieron 4 ml de N-butanol y piridina para extraer el complejo con el ácido tiobarbitúrico y tras agitar, centrifugar y lavar se lee la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro a 532 nm. Los resultados se expresan en nM/mg de proteína, de acuerdo con la técnica convencional.^{15,16}

Análisis estadístico

Se comparó el grupo control contra el grupo experimental, analizando en cada uno la elevación de las enzimas AST,

ALT y DHL, así como del malondialdehído con promedios y error estándar. De acuerdo con los hallazgos se utilizó una prueba t pareada para establecer diferencias, considerando un valor de p menor a 0.05 como estadísticamente significativo.

Resultados

La elevación significativa de las enzimas AST, ALT y DHL muestra el grado de lesión hepática inducida por la isquemia-reperfusión. No se incluyen los datos del grupo simulado dado que presentó cambios dentro de los parámetros normales (cuadro I).

Los niveles séricos de AST, ALT, Y DHL fueron significativamente menores en contraste con los del grupo 2, fenómeno que podemos atribuir al preacondicionamiento hepático. No se incluyen los datos del grupo simulado dado que no presentó cambios significativos (cuadro II).

Al analizar las figuras 2 a 4 se aprecia que existió disminución estadísticamente significativa de los niveles séricos de AST, ALT y DHL en el grupo de preacondicionamiento hepático, en contraste con los del grupo sometido a isquemia-reperfusión convencional, es decir, sin preacondicionamiento previo, fenómeno que se atribuye al efecto benéfico de adaptación del hígado ante el precondicionamiento ($p = 0.001$). Y en la figura 5 (malondialdehído) observamos una disminución estadísticamente significativa de los niveles de concentración en el grupo con preacondicionamiento hepático comparados con los del grupo 2, sometido a isquemia total hepática.

Cuadro I. Valores de AST, ALT, DHL y malondialdehído obtenidos en el grupo sometido a isquemia total y medición en la fase de reperfusión a las 1, 2, 4, 12 y 24 horas

IRHT	AST	ALT	DHL	MDA
1 hora	1866 ± 416	2041 ± 254	5198 ± 673	1.13 ± 0.09
2 horas	2338 ± 297	3271 ± 199	6731 ± 488	1.36 ± 0.11
4 horas	2241 ± 316	3681 ± 323	6208 ± 366	1.02 ± 0.07
12 horas	1952 ± 178	2435 ± 201	4626 ± 291	0.91 ± 0.05
24 horas	1679 ± 163	1998 ± 191	4001 ± 215	0.84 ± 0.04

IRHT = isquemia reperfusión hepática total, AST = aspartato aminotransferasa (UI/ml), ALT = alanina aminotransferasa (UI/ml), DHL = deshidrogenasa láctica (UI/ml), MDA = malondialdehído (mm/mg prot.).

Cuadro II. Valores de AST, ALT, DHL y malondialdehído obtenidos en el grupo experimental sometido a preacondicionamiento a las 1, 2, 4, 12 y 24 horas

Preacondicionamiento hepático	AST	ALT	DHL	MDA
1 hora	681 ± 170	866 ± 150	1466 ± 333	0.64 ± 0.10
2 horas	960 ± 139	1033 ± 166	2000 ± 266	0.72 ± 0.07
4 horas	619 ± 108	966 ± 116	1600 ± 300	0.64 ± 0.04
12 horas	185 ± 108	400 ± 133	733 ± 233	0.57 ± 0.04
24 horas	123 ± 92	233 ± 83	466 ± 200	0.52 ± 0.03

AST = aspartato aminotransferasa (UI/ml), ALT = alanina aminotransferasa (UI/ml), DHL = deshidrogenasa láctica (UI/ml), MDA = malondialdehído (mm/mg prot.).

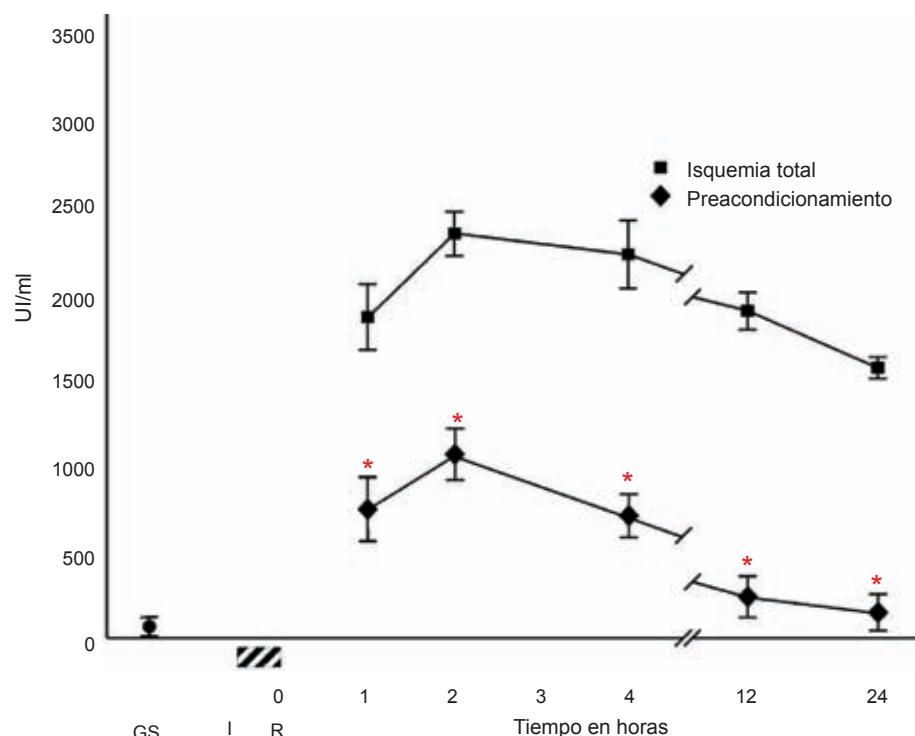


Figura 2. Aspartato aminotransferasa del grupo control (isquemia total) comparada con la del grupo experimental (preacondicionamiento hepático) a las 1, 2, 4, 12 y 24 horas. *Tiempos del curso temporal con diferencias estadísticamente significativas. GS = grupo simulado, I = inicio de isquemia, R = inicio de reperfusión en minuto 0.

Discusión

El preacondicionamiento hepático isquémico ofrece al hígado mayor resistencia a los efectos deletéreos de la lesión por isquemia-reperfusión al activar diferentes mecanismos endógenos de autoprotección. En nuestro trabajo los niveles séricos de AST, ALT y DHL, así como los niveles de malondialdehído, resultaron significativamente menores al compararlos con los del grupo 2 sometido a isquemia total hepática, en un modelo animal en un curso temporal de

24 horas en la fase de reperfusión. Los períodos analizados de 10 minutos de isquemia seguidos por 10 minutos de reperfusión, previos al periodo convencional estudiado en el grupo 2, ofrecieron hepatoprotección en las variables estudiadas.

En relación con los eventos que suceden en el preacondicionamiento hepático debemos recordar que la formación de especies reactivas al oxígeno durante el periodo isquémico y la liberación de éstas durante la reperfusión produce, además de otros efectos deletéreos, daño a las membranas

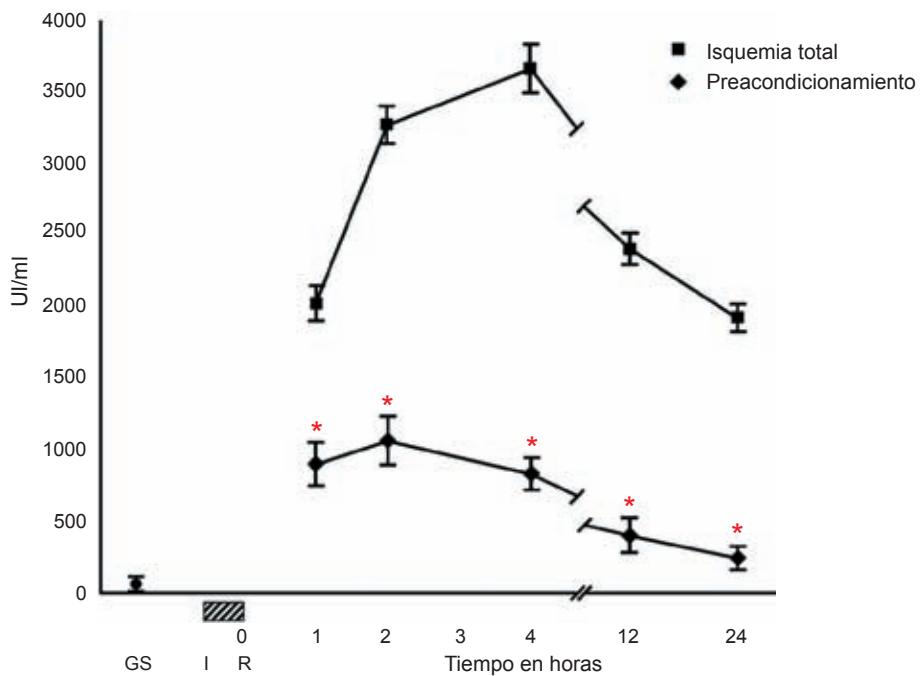


Figura 3. Alanina aminotransferasa (ALT) del grupo control comparada con la del grupo experimental a las 1, 2, 4, 12 y 24 horas. *Tiempos del curso temporal con diferencias estadísticamente significativas. GS = grupo simulado o *sham*, I = inicio de isquemia, R = inicio de reperfusión en minuto 0.

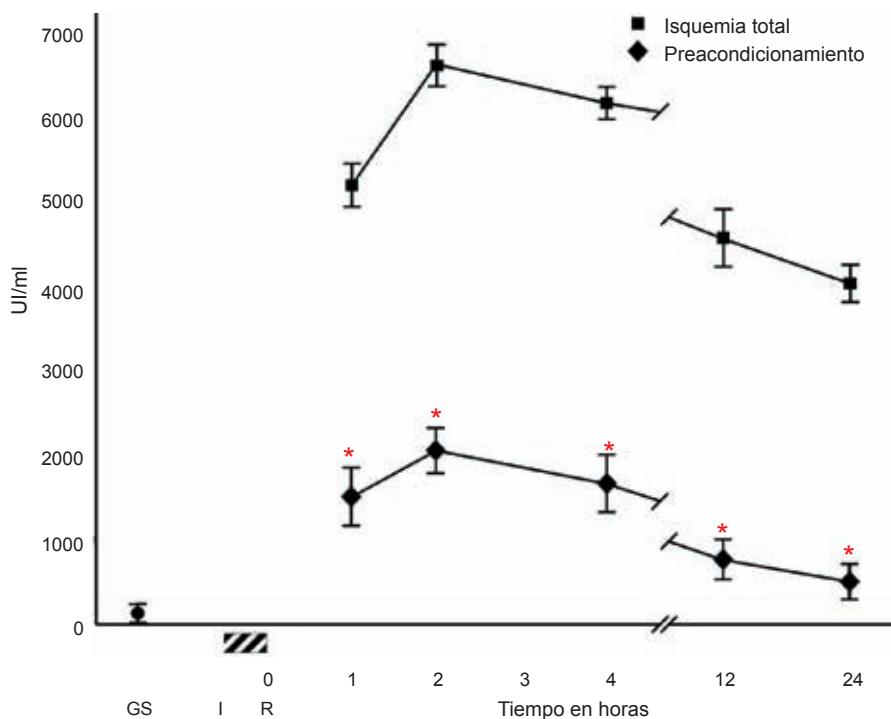


Figura 4. Deshidrogenada láctica del grupo control comparada con la del grupo experimental a las 1, 2, 4, 12, 24 horas. *Tiempos del curso temporal con diferencias estadísticamente significativas. GS = grupo simulado, I = inicio de isquemia, R = inicio de reperfusión en minuto 0.

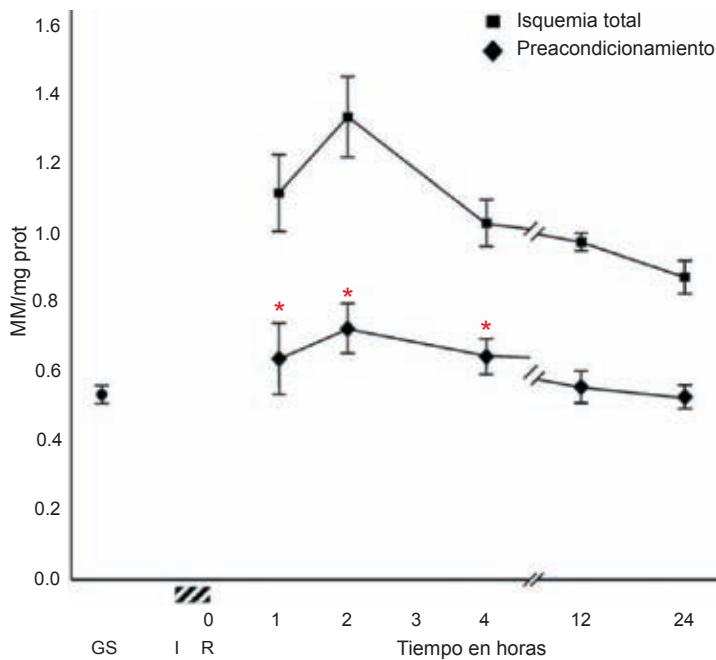


Figura 5. Malondialdehido del grupo control comparado con el del grupo experimental a las 1, 2, 4, 12, 24 horas. *Tiempos del curso temporal con diferencias estadísticamente significativas. GS = grupo simulado, I = inicio de isquemia, R = inicio de reperfusión en minuto 0.

celulares mediante lipoperoxidación de los lípidos que forman su estructura, provocando así lesión celular que en algunos casos ocasiona la muerte de la célula.¹⁷

La lesión oxidativa producida por las especies reactivas al oxígeno puede ser cuantificada mediante la medición de indicadores indirectos de lipoperoxidación como el malondialdehido, también conocido como especie reactiva al ácido tiobarbitúrico. En nuestro trabajo se demostró que el preacondicionamiento hepático muestra, de manera significativa, una disminución en la lipoperoxidación. En el grupo de ratas sometidas a preacondicionamiento hepático las cifras de malondialdehido fueron significativamente menores comparadas con las del grupo sometido a isquemia hepática total en el grupo 2. Con lo anterior corroboramos el efecto hepatoprotector del preacondicionamiento hepático al disminuir la lipoperoxidación.

En nuestro estudio se demuestra que realizar 10 minutos de isquemia total hepática seguidos de 10 minutos de reperfusión previos a la oclusión vascular final, fue suficiente para la inducción del preacondicionamiento en la célula hepática, beneficio evidenciado al comparar los resultados de las enzimas hepáticas y de los indicadores de estrés oxidativo con los niveles de lipoperoxidación de los grupos estudiados.

Cuando el hígado se somete a un periodo isquémico, las alteraciones inducidas por el estrés oxidativo pueden

no verse iniciadas dada la participación del factor nuclear kappa B (NFkB), que participa, hasta cierto punto, en la inducción de la óxido nítrico sintetasa, citocinas como el FNT α , quimiocinas y moléculas de adhesión como el ICAM-1.¹⁸ El NFkB normalmente se encuentra en el citoplasma fijo a la proteína inhibidora I κ B. Durante el estrés oxidativo la I κ B se degrada permitiendo la translocación nuclear de NFkB.¹⁹ Entre los diversos mecanismos descritos por los que se activa el NFkB resaltan, sobre todo, las especies reactivas, particularmente el H₂O₂, y se ha documentado la disminución de su activación con la administración de antioxidantes.²⁰

Por lo anterior resultaría interesante para trabajos posteriores cuantificar los niveles de factores nucleares de transcripción como el NFkB, para demostrar su participación en la inducción de respuesta inflamatoria secundaria al estrés oxidativo y para evidenciar su atenuación o disminución de su expresión al utilizar el preacondicionamiento hepático.

Todos estos resultados poseen gran importancia por su aplicación potencial, en un futuro, en el campo clínico. Será de gran utilidad generar estudios clínicos controlados en pacientes que se someten a cirugía hepática (por ejemplo: trauma hepático, hepatectomías parciales, trasplante hepático, etcétera) para identificar en el ser humano los efectos benéficos del preacondicionamiento hepático al atenuar la lesión por isquemia-reperfusión. A la fecha existen estudios

que favorecen esta hipótesis, pero la principal limitación es el número de pacientes y la publicación de trabajos prospectivos controlados es todavía limitada y sus resultados controversiales.^{14,21-24}

Conclusiones

La lesión por isquemia y reperfusión es un factor importante en la morbilidad y mortalidad de los pacientes sometidos a cirugía hepática de diversos tipos, particularmente en el trasplante de hígado. La isquemia-reperfusión favorece la producción de especies reactivas al oxígeno, las cuales, junto con muchos otros mecanismos, lesionan directamente a los hepatocitos y a las células endoteliales; traduciéndose en alteraciones en la funcionalidad del órgano y comprometiendo su viabilidad. Una manera de mejorar el pronóstico del órgano es, precisamente, disminuir la producción de esas especies reactivas al oxígeno. En los últimos años se han planteado mecanismos farmacológicos y genómicos para atenuar el daño hepático, sin embargo, esas técnicas no están libres de efectos secundarios y en muchas ocasiones son insuficientes debido a la gran cantidad de elementos que participan en la isquemia-reperfusión. En los últimos años, el preacondicionamiento isquémico ha sido objeto de múltiples estudios por los drásticos cambios en la respuesta a la isquemia-reperfusión en diversos modelos experimentales, sin embargo, se desconoce la totalidad de los mecanismos que participan en la modulación de ese proceso. Con los resultados obtenidos en este trabajo se demuestra que el preacondicionamiento disminuye de manera significativa la oxidación de los lípidos de membrana. Esto a su vez procura la integridad del parénquima hepático, con la que se obtiene una disminución estadísticamente significativa en comparación con el grupo sometido a isquemia-reperfusión total.

Se puede proponer que el preacondicionamiento hepático es un mecanismo eficaz para disminuir la elevación de las enzimas hepáticas y de los indicadores indirectos de lipoperoxidación en los modelos de isquemia y reperfusión y que deben realizarse estudios clínicos controlados para determinar su funcionalidad y su utilidad clínica.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo técnico-académico en el cuidado de los animales de laboratorio y muestras de malondialalhído a Benjamín León, Andrés Montiel-Rodríguez, Carolina Baños-Galeana, Carmen Peña-Jiménez, Mario Téllez-Sánchez, Jorge García-Loya y Graciela Villeda-Rodríguez (Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM). De mane-

ra especial al doctor Enrique Piña Garza, profesor emérito de la Facultad de Medicina, UNAM, por la sugerencias al presente trabajo y por las facilidades brindadas para llevar a cabo las determinaciones bioquímicas en su laboratorio. Al doctor Fernando Villegas Álvarez, profesor titular del Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, UNAM, por el apoyo brindado en la realización de este proyecto de cirugía experimental.

Referencias

1. Huguet C, Gavelli A, Bona S. Hepatic resection with ischemia of the liver exceeding one hour. *J Am Coll Surg* 1994;178:454-458.
2. Montalvo-Javé EE. Lesión por isquemia reperfusión y trauma hepático. *Trauma* 2008;11:92-100.
3. Carini R, Albano E. Recent insights on the mechanisms of liver preconditioning. *Gastroenterology* 2003;125:1480-1491.
4. Montalvo-Javé E, Villegas-Álvarez F, Montalvo-Arenas C, Pena-Sánchez J, Gutiérrez-Vega R, Pina E. Liver transplantation: some advances in liver cancer, live liver donation, and cell transplantation. A literature review. *Rev Gastroenterol Mex* 2009;74:341-348.
5. Teoh NC, Farrell GC. Hepatic ischemia reperfusion injury: pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:891-902.
6. Montalvo-Javé EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Pina E, Geller DA. Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2008;147:153-159.
7. Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001;181:160-166.
8. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312:159-163.
9. Cadena E, Sies H. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. *Adv Enzyme Regul* 1985;23:217-237.
10. Glanemann M, Langrehr JM, Stange BJ, Neumann U, Settmacher U, Steinmuller T, et al. Clinical implications of hepatic preservation injury after adult liver transplantation. *Am J Transplant* 2003;3:1003-1009.
11. Delva E, Camus Y, Nordlinger B, Hannoun L, Parc R, Deriaz H, et al. Vascular occlusions for liver resections. Operative management and tolerance to hepatic ischemia: 142 cases. *Ann Surg* 1989;209:211-218.
12. Peralta C, Bulbena O, Xaus C, Prats N, Cutrin JC, Poli G, et al. Ischemic preconditioning: a defense mechanism against the reactive oxygen species generated after hepatic ischemia reperfusion. *Transplantation* 2002;73:1203-1211.
13. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* 2007;356:1545-1559.
14. Montalvo-Javé EE, Pina E, Montalvo-Arenas C, Urrutia R, Benavente-Chenhalls L, Pena-Sánchez J, et al. Role of ischemic preconditioning in liver surgery and hepatic transplantation. *J Gastrointest Surg* 2009;13:2074-2083.
15. Zentella-de Pina M, Sandoval-Montiel A, Serrano-Alessandri L, Montalvo-Javé E, Zentella-Dehesa A, Pina E. Ethanol-mediated oxidative changes in blood lipids and proteins are reversed by aspirin-like drugs. *Arch Med Res* 2007;38:269-275.
16. Tadolini B, Fiorentini D, Landi L, Cabrini L. Lipid peroxidation. Definition of experimental conditions for selective study of the propagation and termination phases. *Free Radic Res Commun* 1989;5:245-252.
17. Selzner N, Rudiger H, Graf R, Clavien PA. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 2003;125:917-936.

18. Yadav SS, Howell DN, Gao W, Steeber DA, Harland RC, Clavien PA. L-selectin and ICAM-1 mediate reperfusion injury and neutrophil adhesion in the warm ischemic mouse liver. *Am J Physiol* 1998;275:G1341-1352.
19. Shin T, Kuboki S, Lentsch AB. Roles of nuclear factor-kappaB in post-ischemic liver. *Hepatol Res* 2008;38:429-440.
20. Petrowsky H, Busuttil RW. Evolving surgical approaches in liver transplantation. *Semin Liver Dis* 2009;29:121-133.
21. Clavien PA, Selzner M, Rudiger HA, Graf R, Kadry Z, Rousson V, et al. A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg* 2003;238:843-850; discussion 851-852.
22. Lesurtel M, Lehmann K, de Rougemont O, Clavien PA. Clamping techniques and protecting strategies in liver surgery. *HPB (Oxford)* 2009;11:290-295.
23. Franchello A, Gilbo N, David E, Ricchiuti A, Romagnoli R, Cerutti E, et al. Ischemic preconditioning (IP) of the liver as a safe and protective technique against ischemia/reperfusion injury (IRI). *Am J Transplant* 2009;9:1629-1639.
24. Koneru B, Shareef A, Dikdan G, Desai K, Klein KM, Peng B, et al. The ischemic preconditioning paradox in deceased donor liver transplantation-evidence from a prospective randomized single blind clinical trial. *Am J Transplant* 2007;7:2788-2796.