



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

TESIS DE DOCTORADO

**PARTICIPACION DE LOS MEDIADORES PROINFLAMATORIOS
PRODUCIDOS POR LAS CELULAS DE KUPFFER EN EL DAÑO DE
HEPATOCITOS EN RATAS SOMETIDAS A SHOCK POR
TORNQUETE.**

**VIRGINIA LORETO VEGA VARGAS
2000**

RESUMEN

El síndrome de shock se caracteriza por la generación de un estado hipotensivo severo que resulta en el desarrollo de la falla orgánica múltiple (FOM). Con el fin de estudiar los mecanismos involucrados en el desencadenamiento de la FOM hemos estandarizado un modelo de shock en ratas que consiste en la generación de isquemia/reperfusión en las extremidades posteriores, lo que resulta en la aparición de un daño local que se hace extensivo hacia otros órganos. Resultados previos de nuestro laboratorio han mostrado la existencia de un estrés oxidativo hepático agudo en ratas sometidas a shock por torniquete.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la participación de las células de Küpffer en el desarrollo del daño hepático. Ratas hembras Sprague-Dawley fueron sometidas a shock por torniquete con o sin pretratamiento con cloruro de gadolinio ($GdCl_3$), sustancia que inactiva y/o destruye a las células de Küpffer. Nuestros resultados muestran que como consecuencia de la reperfusión de las extremidades posteriores se produce la activación de las células de Küpffer lo que resulta en un incremento en el clearance de carbón coloidal y en la síntesis y secreción de citoquinas proinflamatorias ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ e $IL-6$) hacia la circulación. Conjuntamente, observamos que la activación de las células de Küpffer desencadena un estrés oxidativo hepático caracterizado por la disminución en los niveles de GSH y SOD tisular y por un aumento en los productos derivados de la peroxidación lipídica (TBARS) y por la liberación de las transaminasas a la circulación. Además, los resultados señalan que la infiltración leucocitaria del hígado así como las alteraciones hematológicas reportadas en este modelo de shock son consecuencia de la activación de los macrófagos hepáticos. Es importante destacar que el pretratamiento de los animales con $GdCl_3$ previene todas las alteraciones señaladas e incrementa la supervivencia de los animales sometidos a shock por torniquete. Por otra parte, demostramos que la liberación de la xantina oxidasa (XO) desde las extremidades reperfundidas hacia la circulación resulta en un incremento en los niveles de XO circulante y en la activación de las

células de Küpffer, lo que sugiere que esta enzima sería uno de los mediadores endógenos responsables de la propagación del daño asociado a la isquemia/reperfusión de las extremidades posteriores. Del mismo modo, los estudios *in vitro* señalan que la XO induce la secreción de mediadores proinflamatorios (TNF- α , IL-1 β e IL-6) y óxido nítrico en las células de Küpffer provenientes de animales controles. Además, se observó que el cultivo de hepatocitos provenientes de animales controles con medio de cultivo condicionado proveniente de estas células y con XO resulta en alteraciones oxidativas similares a las observadas en los cultivos de hepatocitos provenientes de animales sometidos a shock por torniquete.

Estos resultados nos permiten concluir que: a) el daño oxidativo hepático depende de la activación de las células de Küpffer y b) la XO es uno de los mediadores endógenos involucrados en la activación de estas células.

