

11209

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO
CIRUGÍA GENERAL



**ISQUEMIA HEPÁTICA TOTAL VERSUS PARCIAL.
ESTUDIO EXPERIMENTAL CONTROLADO**

**T E S I S D E P O S G R A D O
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN CIRUGÍA GENERAL
P R E S E N T A :
DR. TOMÁS ESCALANTE TATTERSFIELD**

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO



**ASESOR DE TESIS: DR. EDUARDO MONTALVO JAVÉ
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE URGENCIAS
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO**

DIRECCION DE ENSEÑANZA

MÉXICO D.F.

SEPTIEMBRE 2005

m348593



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

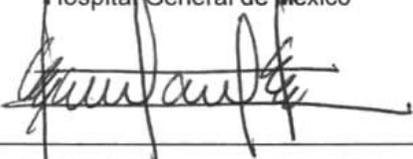
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.


Dr. Eduardo de Anda Becerril
Director de Enseñanza
Hospital General de México




Dr. Rafael Gutiérrez Vega
Profesor Titular, Curso Universitario de Posgrado
Cirugía General
Facultad de Medicina UNAM
Hospital General de México


Dr. Eduardo Montalvo Javé
Asesor de Tesis
Cirugía General
Hospital General de México


Dr. Tomás Escalante Tattersfield
Residente de cuarto año
Cirugía General
Hospital General de México

A Dios y a Pedro... mis eternos acompañantes e incansables guardianes.

A mi *alma mater*, ¡México, Pumas, Universidad!

Al Hospital General: maestros, médicos y pacientes, por dejarme aprender, dejarme ser y dejarme hacer.

A Mauricio Hurtado, por regresarme a la pelea y enseñarme a ser paciente.

A Marco y Álvaro, por que juntos somos indestructibles.

Al resto de mis compañeros de Residencia, particularmente a Lis y Vero, a Jorge y Oswaldo, a Miguel y Javier, por su amistad, su enseñanza y su autenticidad.

A Eduardo, por su perseverancia ante dos incorregibles.

A Jorge y a GEMSI, por mostrarme lo que sigue después.

A todos los que forman la banda de Tobo, por que siempre están ahí y por que son parte inherente de lo que soy.

A mis padres, Chaquira y Fernando, y a mis hermanos, Juan Carlos, Pablo y Fernando, por su ejemplo, comprensión, confianza, apoyo, amor y cariño, todos incondicionales.

A Ana, mi mujer y el amor de mi vida, por comprender a la medicina y por ser mi pilar mas fuerte.

Introducción	1
Anatomía y fisiología hepáticas	1
Anatomía hepática	1
Anatomía lobar	3
La vena porta	5
La arteria hepática	5
Las venas hepáticas	6
La vía biliar	7
Inervación	9
Drenaje linfático	10
Anatomía microscópica	10
Microcirculación hepática	12
El hepatocito	13
Funcionamiento hepático	13
Riego sanguíneo	14
Fisiología biliar	15
Circulación enterohepática	16
Metabolismo de la bilirrubina	17
Metabolismo de carbohidratos	17
Metabolismo de lípidos	18
Metabolismo de proteínas	18
Metabolismo de vitaminas	19
La coagulación	20
Regeneración hepática	20
Evaluación bioquímica de la función hepática	21
Aminotransferasas	21
Niveles de AST y ALT	22
Deshidrogenasa láctica	22
Isquemia y reperfusión	22
Factores que participan en la lesión por isquemia y reperfusión	23

Alteraciones en la microcirculación	23
Óxido nítrico y endotelina	24
Citocinas	24
Células de Kupffer	25
Especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo	25
Neutrófilos	27
Factores del complemento	28
Homeostasis del calcio	28
Plaquetas	28
Adenosina	29
Factores de transcripción	29
Apoptosis y necrosis	30
Consecuencias de la manipulación quirúrgica del hígado sobre la congestión esplácnica	31
Consideraciones especiales sobre la anatomía hepática de las ratas	32
Justificación	33
Planteamiento del problema	34
Objetivos	35
Objetivo general	35
Objetivos específicos	35
Material y métodos	36
Análisis estadístico	40
Resultados	41
Discusión	47
Conclusión	49
Referencias bibliográficas	50

INTRODUCCIÓN

La interrupción del aporte sanguíneo, con la subsiguiente ausencia de aporte de oxígeno y nutrientes, es un fenómeno inherente a la manipulación de un órgano en diversos procedimientos quirúrgicos. A nivel hepático, existen situaciones clínicas en las que los periodos de isquemia pueden ser particularmente prolongados, como cuando se realiza la resección de grandes tumoraciones, en el manejo de traumatismos hepáticos de diversos grados de severidad, reconstrucciones vasculares, y en la procuración del hígado para trasplante.^{1,2,3} Al reestablecer el flujo de sangre y de oxígeno, la reperfusión acentúa la lesión provocada por el periodo de isquemia agravando de manera considerable la magnitud del daño a nivel tisular.^{4,5} Este fenómeno, conocido como lesión por isquemia-reperfusión (IR), repercute directamente en la viabilidad del hígado, particularmente, el destinado para trasplante.^{3,6}

Anatomía y fisiología hepáticas⁷

Anatomía hepática.

El hígado es el órgano sólido más grande del cuerpo y ocupa gran parte del cuadrante superior derecho del abdomen. El borde costal derecho coincide con el borde inferior, y la superficie superior está cubierta por el diafragma. La gran mayoría del hígado derecho y la mayor parte del izquierdo están protegidas por la caja torácica. El hígado se extiende superiormente desde la quinta costilla en el hemitórax derecho, y la sexta costilla en el izquierdo. La superficie posterior cabalga sobre la vena cava inferior (VCI). Una lengüeta anterior del hígado se extiende a la mitad izquierda del abdomen a través del epigastrio, pasando sobre la superficie anterior del estómago. La superficie superior del hígado es convexa y moldeada por el diafragma, mientras que la superficie inferior es ligeramente cóncava y se limita por un borde anterior bien identificado. El hígado está recubierto por peritoneo excepto en la región del lecho de la vesícula biliar, la

porta hepatis, y una superficie en forma de cuña en ambos lados de la VCI (llamada el área descubierta del hígado). Los repliegues de peritoneo en la superficie anterior del hígado se llaman ligamentos, destacando el ligamento coronario y los ligamentos triangulares en ambos lados del órgano (figura 1).

Figura 1.

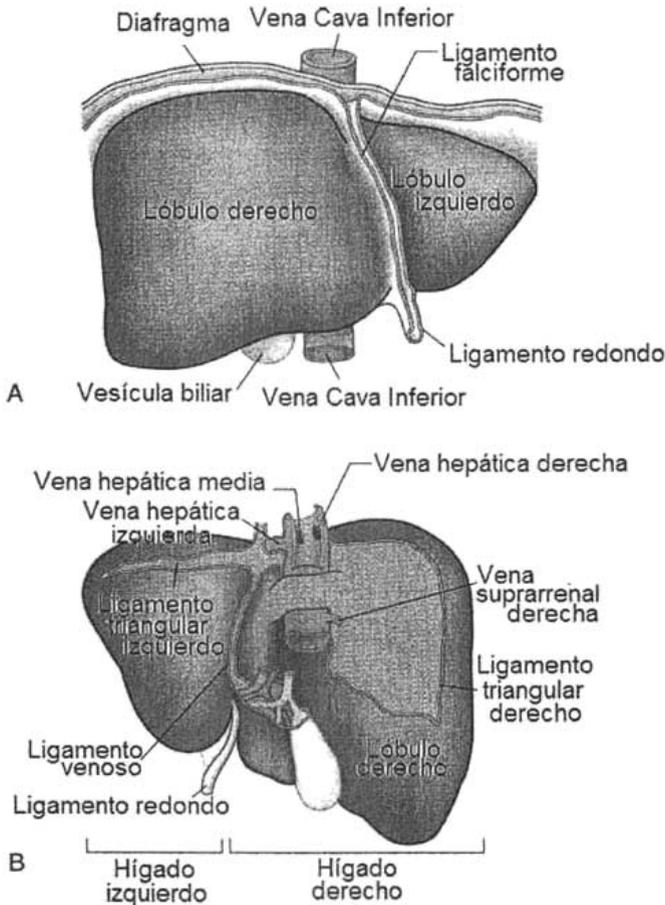


Figura 1. A: División histórica del hígado en lóbulo izquierdo y derecho según el ligamento falciforme. B: superficies posterior e inferior del hígado.⁸

El ligamento falciforme se origina en el centro del ligamento coronario, que se extiende anteriormente como una membrana delgada que conecta la superficie del hígado al diafragma, a la pared abdominal y a la cicatriz umbilical. El ligamento

redondo (la vena umbilical obliterada) corre por el borde inferior del ligamento falciforme de la cicatriz umbilical a la fisura umbilical. La fisura umbilical está en la superficie inferior del lóbulo izquierdo del hígado, y contiene a la porta hepatis. Está proporciona el riego arterial y el drenaje venoso por la vena porta, y penetra en el hígado a nivel del hilo ramificándose dentro del hígado como una sola unidad que incluye también a los conductos biliares (porta hepatis). El drenaje venoso desemboca en las venas suprahepáticas, que drenan directamente en la VCI.^{8,9}

Anatomía lobar.

Históricamente, el hígado se dividía en lóbulo derecho e izquierdo, a partir de las ramas de la porta y de las venas hepáticas. Posteriormente, se utilizó la línea de Cantlie (una línea imaginaria que va de la fosa vesicular en la cara anterior e inferior del hígado, a la cara izquierda de la VCI en la superficie posterior y superior) para hacer la división de los dos lóbulos del hígado. El lóbulo derecho se dividía además en un segmento anterior y uno posterior. El lóbulo izquierdo se dividió en un segmento central (también conocido como lóbulo cuadrado) a la derecha del ligamento falciforme y la fisura umbilical, y un segmento lateral a la izquierda. Esta división es suficiente para la movilización del hígado y para realizar procedimientos quirúrgicos sencillos, pero no describe la compleja división anatómica y funcional que en la actualidad es empleada por la mayoría de los cirujanos de hígado.⁷ La anatomía funcional del hígado se compone de ocho segmentos (figura 2) suministrados individualmente por una sola tríada portal, que se compone de una vena porta, una arteria hepática, y un conducto biliar. Estos segmentos se organizan a su vez en cuatro sectores, que son separados por cisuras, las cuales contienen a las tres venas hepáticas principales. Estos cuatro sectores dan lugar a las porciones derecha e izquierda del hígado.

Figura 2.

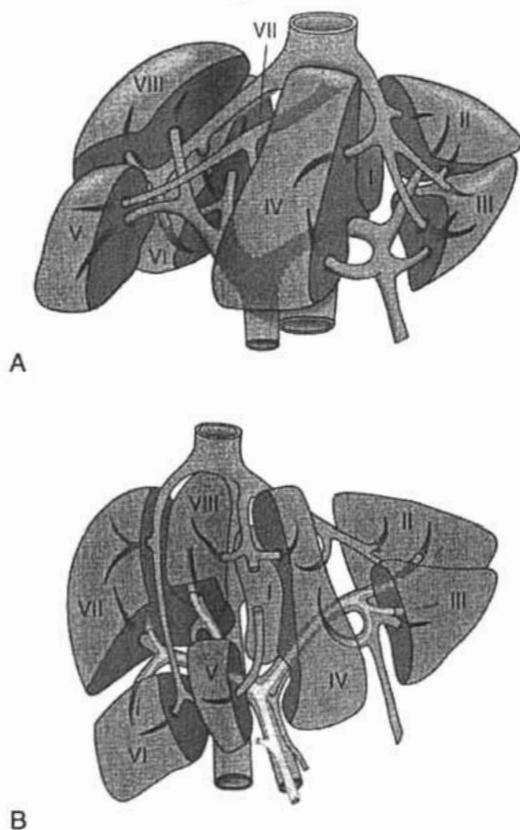


Figura 2. División del hígado en segmentos, como se ve en una laparotomía (A), o ex-vivo (B).⁸

El hígado derecho se divide en un sector anterior (segmentos V y VIII) y un sector posterior (segmentos VI y VII), cada uno con su respectiva arteria, vena y conducto biliar. El hígado izquierdo se divide en un sector anterior (segmentos III y IV) y un sector posterior (segmento II; el único sector compuesto por un solo segmento). El lóbulo caudado (segmento I) es la porción dorsal del hígado y rodea a la superficie posterior de la VCI y que se fusiona con los segmentos VI y VII del hígado derecho.

La vena porta.

La vena porta proporciona cerca del 75% del riego sanguíneo al hígado, y a pesar de llevar sangre poscapilar y en gran parte desoxigenada, su alto flujo proporciona un 50% a 70% de la oxigenación del hígado. La vena porta se forma detrás del cuello del páncreas en la confluencia de la vena mesentérica superior y la vena esplénica a la altura de la segunda vértebra lumbar. La longitud de la vena porta principal va de 5.5 a 8 cm, con un diámetro de aproximadamente 1 cm. En sentido ascendente, la vena porta pasa por detrás de la primera porción del duodeno y se introduce al ligamento hepatoduodenal, generalmente posterior al colédoco y a la arteria hepática. La vena porta se divide en una rama principal derecha y una izquierda a nivel del hilio hepático. La rama izquierda da ramas a los segmentos II, III y IV, y también a la porción izquierda del lóbulo caudado. La vena porta derecha tiene un breve curso extrahepático, y al entrar hígado se divide en una rama anterior y una posterior, ramificándose al resto del hígado.

Hay varias conexiones entre el sistema venoso portal y el sistema venoso sistémico, que en situaciones patológicas de alto flujo como la hipertensión portal, redistribuyen el flujo sanguíneo. Las vías colaterales más significativas son las venas de la submucosa del estómago proximal y el esófago distal, que reciben el flujo de las venas gástricas cortas y de la vena gástrica izquierda (várices esofágicas y gástricas); las venas umbilicales y el ligamento redondo en la pared abdominal (*caput medusae*); el plexo hemorroidal superior que recibe el flujo porta de la vena mesentérica inferior tributario (dilatación hemorroidal); comunicaciones retroperitoneales.¹⁰

La arteria hepática.

La arteria hepática representa el 25 % del flujo sanguíneo al hígado, y al ser de alto flujo con sangre arterial y oxigenada, proporciona el 30 a 50% de su oxigenación. Varias arterias perihepáticas de la cara inferior del diafragma y la

arteria gastroduodenal también puede irrigar al hígado, siendo importantes colaterales en casos de oclusión del aporte arterial. Las colaterales intrahepáticas son tan extensas, que al ligar la rama derecha o izquierda de la arteria hepática proporcionan casi inmediatamente el riego sanguíneo suficiente para el funcionamiento adecuado del tejido. La arteria hepática común se origina del tronco celiaco junto con la arteria esplénica y la gástrica izquierda. Pasa por delante y a la derecha de la parte superior del páncreas y corre por el lado derecho del omento menor, donde asciende hacia el hilio hepático por delante de la vena porta y a la izquierda del colédoco. Proporciona en su trayecto a la arteria gastroduodenal, que para cambiar su nombre por el de arteria hepática propia. Esta última se divide en una rama derecha y una izquierda en el hilio hepático. La arteria hepática izquierda se dirige verticalmente hacia la fisura umbilical para suministrar a los segmentos I, II, y III, dando una pequeña rama llegando al segmento IV. La arteria hepática derecha corre por detrás del al conducto hepático común y entra al triángulo de Calot, donde proporciona la arteria cística, para después entrar al lóbulo derecho (figura 3). La descripción común del suministro arterial al hígado y al árbol biliar se presenta tan sólo en el 60% de los casos, con variaciones anatómicas que van desde una arteria aberrante, hasta el reemplazo completo del origen arterial originándose en la arteria mesentérica superior. No es raro identificar una arteria hepática izquierda accesoria que se origina en la arteria gástrica izquierda, o una arteria cística accesoria derivada de la hepática derecha o la hepática común. Estas variaciones anatómicas deben de preverse durante la realización de procedimientos quirúrgicos en el hígado, estómago, duodeno, páncreas y vía biliar.¹¹

Las venas hepáticas.

Las tres venas hepáticas mayores desembocan por la superficie superior y posterior del hígado directamente a VCI. La vena hepática derecha corre en la cisura derecha (entre los sectores anterior y posteriores del hígado derecho) y drena la mayor parte del hígado derecho después con una breve (1 cm) porción

extrahepática a la derecha de la VCI. Las venas izquierda y media generalmente se unen dentro del parénquima hepático, desembocando como un solo vaso en la VCI, aunque puedan hacerlo por separado. La vena hepática izquierda viaja entre los segmentos II y III mientras que la vena hepática media corre entre el segmento IV y el sector anterior del hígado derecho, drenando respectivamente esas porciones. Existen también venas accesorias, como las múltiples venas pequeñas que drenan directamente a la VCI en la cara posterior, con frecuencia se identifica una vena accesoria inferior derecha que puede ser de tamaño considerable. El drenaje venoso del lóbulo caudado se hace a través de múltiples venas pequeñas que drenan directamente en la VCI y por una vena tributaria que desemboca superiormente en la vena hepática izquierda.¹²

La vía biliar.

Los conductos biliares intrahepáticos son las ramas terminales de los conductos hepáticos derecho e izquierdo, y junto con una rama de la vena porta y de la arteria hepática forman la tríada portal. El conducto hepático izquierdo drena los segmentos II, III, y IV del hígado izquierdo, para posteriormente formar el conducto izquierdo principal. El conducto hepático derecho drena al hígado derecho (segmentos V al VIII) y se forma por la unión del conducto del sector anterior (segmentos V y VIII) y el del sector posterior (segmentos VI y VII). El conducto hepático derecho, más corto que el izquierdo, se fusiona con este último en el hilio hepático para formar al conducto hepático común. El lóbulo caudado (segmento I) tiene su propio drenaje biliar, generalmente a ambos sistemas derecho e izquierdo. El conducto hepático común se forma por delante de la vena porta. El conducto hepático común se dirige en sentido caudal uniéndose con el conducto cístico, formando el colédoco. El colédoco corre por la derecha del ligamento hepatoduodenal a la derecha de la arteria hepática y anterior a la vena porta. El colédoco (10 a 15 cm de largo y 6 mm de diámetro) pasa por detrás de la primera porción del duodeno y entra en la cabeza del páncreas en una dirección inferior y levemente hacia la derecha. La porción intrapancreática se une con el conducto

pancreático principal (de Wirsung), con o sin un conducto común, y desemboca en la segunda porción del duodeno a través de la ámpula de Vater (figura 3). En la unión del colédoco con el duodeno y el conducto de Wirsung, un complejo esfínter muscular conocido como el complejo esfinteriano de Boyden regula el flujo de bilis y previene el reflujo del contenido duodenal al árbol biliar.¹³

Figura 3.

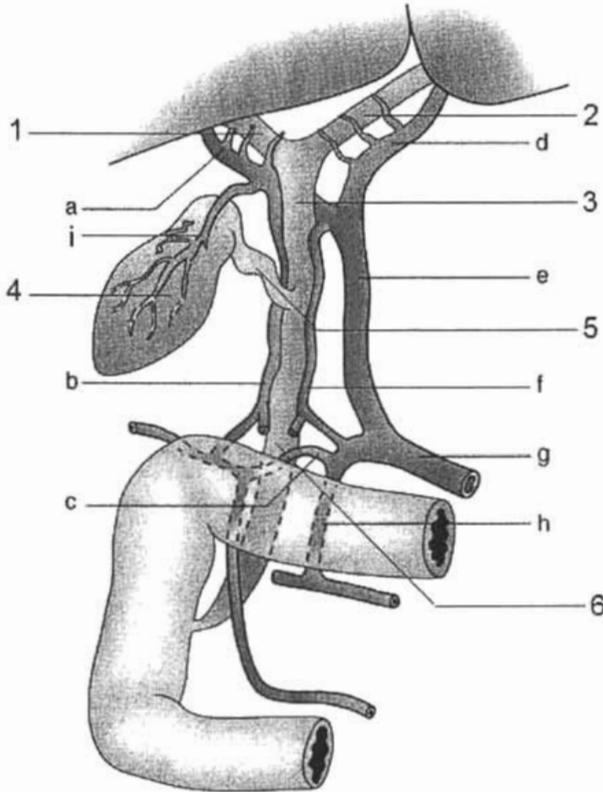


Figura 3. Estructuras anatómicas normales en el hilio hepático. a: arteria hepática derecha; b y f: arterias que irrigan al colédoco situadas en los aspectos medial y lateral del colédoco (en los radios de las 3 y las 9); c: arteria retroduodenal; d: arteria hepática izquierda; e: arteria hepática propia; g: arteria hepática común; h: arteria gastroduodenal; i: arteria cística. 1: conducto hepático derecho; 2: conducto hepático izquierdo; 3: conducto hepático común; 4: vesícula biliar; 5: conducto cístico; 6: colédoco.⁸

La vesícula biliar es un depósito de bilis adherida a la superficie inferior de los segmentos IV y V del hígado, cubierta por un repliegue peritoneal en su totalidad salvo por la parte adosada al hígado. La vesícula varía de tamaño, pero generalmente mide alrededor de 10 cm de largo y 3 a 5 cm de ancho. Se compone de un fundus, cuerpo, infundíbulo y un cuello que drena en el conducto cístico. El fundus se proyecta un poco más allá del a borde anterior del hígado. El infundíbulo (o bolsa de Hartmann) cuelga hacia adelante y hacia abajo por el borde libre del omento menor, y puede plegarse por delante del conducto cístico. La porción de vesícula biliar entre el infundíbulo y el conducto cístico se conoce como el cuello. El conducto cístico varía en longitud, curso, y en su unión al árbol biliar. La primera porción del conducto cístico es generalmente tortuosa, y contiene las duplicaciones de la mucosa (válvulas de Heister) que regulan el llenado y vaciamiento de la vesícula. En la mayoría de los casos, el conducto cístico se une al conducto hepático para formar el conducto colédoco (figura 3).¹⁴

Las múltiples variaciones de la anatomía del árbol biliar son tan frecuentes (30% de los casos) que es imprescindible su conocimiento para la realización segura de procedimientos quirúrgicos hepatobiliare. Cualquiera de los conductos de los sectores derechos pueden drenar en el conducto hepático izquierdo, el conducto hepático común, el conducto cístico, o raramente, a la vesícula biliar. La ubicación y entrada del conducto cístico en el sistema biliar también es muy variable. Generalmente, el conducto cístico se une al conducto hepático común formando un ángulo, pero puede correr paralelo a este y unirse más distalmente, o puede pasar por detrás del hepático común uniéndose por el lado izquierdo, o ser muy corto o incluso estar ausente.

Inervación

La inervación del hígado y de la vía biliar está dada por fibras simpáticas que se originan de las raíces de T7 a T10, con fibras parasimpáticas provenientes de ambos nervios vagos. Las fibras simpáticas pasan por ganglios celiacos antes de emitir fibras posganglionares al hígado y a los conductos biliares. Los ganglios

celiacos derechos y el nervio vago derecho forman un plexo nervioso anterior que corre junto con la arteria hepática. Los ganglios celiacos izquierdos y el nervio vago izquierdo forman un plexo posterior que corre por detrás del conducto biliar y la vena porta. Las arterias hepáticas reciben fibras simpáticas, mientras que la vesícula biliar y los conductos biliares extrahepáticos reciben fibras simpáticas y parasimpáticas. El dolor provocado por la distensión aguda de la cápsula hepática se refiere al hombro derecho por la inervación de la cápsula por el nervio frénico.⁸

Drenaje linfático.

La mayoría del drenaje linfático del hígado se hace a los ganglios del ligamento hepatoduodenal. El drenaje se continúa siguiendo a la arteria hepática hacia los ganglios linfáticos del tronco celiaco y de ahí a la cisterna del quilo. El drenaje linfático también puede seguir a las venas hepáticas drenando en los ganglios suprahepáticos de la VCI a través del hiato del diafragma. El drenaje linfático de la vesícula biliar y la mayor parte de la vía biliar extrahepática es a los ganglios del ligamento hepatoduodenal, de donde puede dirigirse a los ganglios del tronco celiaco, o hacia los ganglios retropancreáticos.¹⁵

Anatomía microscópica.

La unidad funcional del hígado se conoce como lobulillo hepático (figura 4), y está compuesto por una vena terminal central, rodeada por seis tríadas portales (arteria hepática, vena porta y conducto biliar), formando unidades poligonales. Los hepatocitos están dispuestos entre las tríadas portales y la vena central, y cada hepatocito se encuentra rodeado por capilares sinusoidales. La sangre fluye de la tríada portal a través del sinusoides hacia la vena central. La bilis se forma en los hepatocitos y se excreta a los canalículos biliares en las paredes laterales de los hepatocitos, los cuales se fusionan entre sí formando los conductos que forman parte de la tríada portal. Esta distribución funcional proporciona una base estructural para las funciones metabólicas y secretoras del hígado. El espacio

entre la tríada portal y la vena central se divide en tres zonas según su constitución enzimática y exposición a la sangre oxigenada rica en nutrientes. Los hepatocitos de la zona 1, conocida como la zona periportal, se encuentran en el ambiente rico en nutrientes y oxígeno inmediatamente adyacente a la tríada portal. Los hepatocitos de las zonas 2 (intermedia) y 3 (perivenular), tienen menos exposición al oxígeno y nutrientes. Las células de las zonas diferentes difieren enzimáticamente y responden diferentemente a la exposición de las toxinas así como a la hipoxia.^{16, 17}

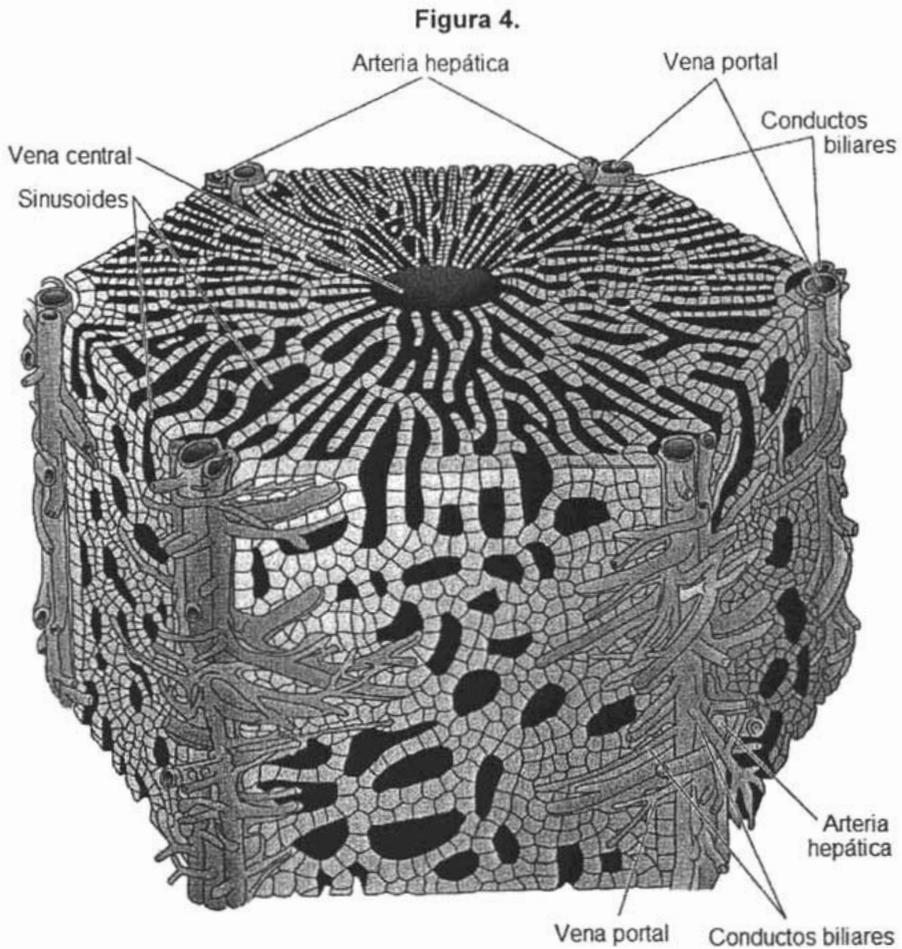


Figura 4. Representación esquemática de un lobulillo hepático.¹⁶

Microcirculación hepática.

La vena porta suministra sinusoides directamente al tejido hepático, proporcionando un flujo sanguíneo constante y de bajo volumen. Las ramas arteriales desembocan a esos sinusoides, creando un plexo vascular que rodea e irriga a los conductos biliares y que contribuye al volumen sanguíneo de los sinusoides. El flujo sanguíneo de los sinusoides drena directamente a las venas centrales de los lobulillos.¹⁸ Los sinusoides hepáticos están recubiertos por células endoteliales, las cuales corresponden a un 15 a 20% del total de células en el hígado. Las células endoteliales carecen de uniones intercelulares y su arquitectura está dispuesta formando múltiples fenestraciones. Estas características permiten una mayor superficie de contacto entre los hepatocitos, con la presencia de un espacio líquido extravascular (espacio de Disse), permitiendo que la sangre permanezca en la luz sinusoidal. Por lo tanto, este sistema permite el movimiento bidireccional de sustancias de alto y bajo peso molecular en y hacia los hepatocitos, confiriendo una gran capacidad de filtración. Las células endoteliales responden a estímulos exógenos y endógenos, modulando el diámetro de las fenestraciones, restringiendo el paso de solutos hacia y desde los hepatocitos.¹⁸

Otros tipos de células presentes en la cubierta sinusoidal son las células de Kupffer y las células de Ito. Las células de Kupffer son células irregulares derivadas de los monocitos, con capacidad fagocítica y que pueden emigrar a través de los sinusoides hacia las heridas del parénquima hepático, donde atrapan sustancias ajenas y participan en la iniciación de la respuesta inflamatoria. Las células de Ito, o células estelares, son células con un alto contenido de lípidos alojadas en el espacio de Disse. Poseen procesos dendríticos que se encuentran en contacto íntimo con los hepatocitos y las células endoteliales. Tienen la capacidad de almacenar vitamina A y sintetizar colágeno en la matriz extracelular.

Cuando se activan, estas células semejan a los miofibroblastos por sus cambios morfológicos, contractilidad celular, y la producción de colágeno, teniendo un papel central en el desarrollo y la progresión de la fibrosis hepática.¹⁹

El hepatocito.

Los hepatocitos son células complejas que corresponden al 60% de la masa celular del hígado. Morfológicamente, el hepatocito tiene forma poliédrica con un núcleo esférico central. Por su disposición arquitectónica, cada hepatocito se encuentra en contacto con los hepatocitos adyacentes, con el canaliculo biliar, y con el espacio sinusoidal. Entre las muchas funciones de los hepatocitos se encuentran la captura, almacenamiento y liberación de nutrientes; la síntesis de múltiples proteínas plasmáticas, ácidos grasos y lípidos; la producción y la secreción de bilis (y con ello la digestión de las grasas de la dieta); y la degradación y metabolismo de toxinas. El hepatocito es una de las células mas diversas y metabólicamente activas del cuerpo, que se refleja en la abundancia de sus organelos. Cada hepatocito tiene 1,000 mitocondrias, ocupando el 20% del volumen de la célula. Esas mitocondrias son las responsables de la producción de energía (ATP) para las demandas metabólicas del hepatocito, además de ser esenciales para la oxidación de los ácidos grasos. La fracción microsomal del hepatocito (un intricado sistema formado por los reticulos endoplásmicos liso y rugoso así como el aparato de Golgi) tiene una gama diversa de funciones, entre las que destacan la síntesis de proteínas secretoras y estructurales, el metabolismo de los lípidos y la glucosa, la producción y metabolismo del colesterol, la glicosilación de proteínas secretoras, la formación y secreción de la bilis, y el metabolismo de distintos fármacos.¹⁶

Funcionamiento hepático.

El arreglo anatómico del hígado permite la realización de las múltiples funciones que el órgano lleva a cabo. El hígado es el centro metabólico de la homeostasis.

Es el sitio regulador del metabolismo energético al coordinar la captura, procesamiento y distribución de los nutrientes y sus productos. El hígado sintetiza una gran cantidad de proteínas, enzimas y vitaminas que participan en un amplio espectro de funciones fisiológicas. El hígado también metaboliza y elimina muchas sustancias exógenas y endógenas, actuando como el filtro más grande del cuerpo humano. Es el intermediario de la energía adquirida en la dieta y los tejidos extrahepáticos que requieren de esta energía. El hígado recibe cerca del 28% del flujo sanguíneo total del cuerpo, y utiliza cerca del 20% de las kilocalorías totales utilizadas por el cuerpo. El hígado recibe los metabolitos de la dieta gracias a la circulación portal, para posteriormente clasificarlos, metabolizarlos, y distribuirlos a la circulación sistémica. También regula las fuentes sistémicas de energía a partir de los ácidos grasos y glicerol del tejido adiposo, y del lactato, piruvato y aminoácidos provenientes del músculo esquelético. El hígado libera a la circulación sistémica dos sustancias para la obtención de energía, la glucosa y acetoacetato. La glucosa se sintetiza a partir de la glucogenólisis del glucógeno almacenado y por la gluconeogénesis a partir del lactato, piruvato, glicerol, propionato y alanina. El acetoacetato se deriva de la oxidación de los ácidos grasos. Los lípidos almacenados como triacilgliceroles y fosfolípidos también son sintetizados y almacenados como lipoproteínas en el hígado, para ser transportados por la circulación sistémica a los tejidos periféricos. Estas funciones son reguladas por hormonas, por el estado nutricional general del organismo, y por las necesidades de los distintos tipos de tejidos.²⁰

Riego sanguíneo.

El suministro de sangre al hígado es proviene de la vena porta y de la arteria hepática. La vena porta proporciona cerca de 75% del riego sanguíneo al hígado, sangre pobre en oxígeno pero rica en nutrientes. La arteria hepática proporciona el otro 25% del aporte sanguíneo, representando el flujo arterial sistémico rico en oxígeno. En términos generales, el riego sanguíneo al hígado representa cerca de la cuarta parte del gasto cardíaco, y disminuye durante el ejercicio y aumenta

después de la ingesta de alimentos (los carbohidratos tienen el efecto más profundo en el riego sanguíneo hepático). La presión de la arteria hepática es representativa de la presión arterial sistémica. La presión de la vena porta es generalmente de 6 a 10 mm Hg, y la presión sinusoidal es de 2 a 4 mm Hg.

El tono muscular de los sinusoides está regulado por el sistema nervioso autónomo, las hormonas circulantes, las sales biliares, y otros metabolitos. Algunos de los factores endógenos que afectan el flujo sanguíneo hepático incluyen al glucagon, histamina, bradicinina, prostaglandinas, óxido nítrico, endotelina, y muchas hormonas intestinales incluyendo a la gastrina, secretina, y colecistoquinina. La contracción y expansión de las células endoteliales, de las células de Kupffer y de las células estelares también regulan el flujo sanguíneo hepático.²¹

Fisiología biliar.

La producción y secreción de la bilis son dos de las funciones más importantes del hígado. La bilis juega dos papeles fisiológicos, 1) la eliminación de sustancias secretadas en la bilis, y 2) proporcionar sales biliares para ayudar a la digestión de las grasas. La bilis contiene soluciones orgánicas e inorgánicas, y es producida por un proceso activo de secreción y la posterior concentración de estas sustancias. La concentración de los solutos inorgánicos de la bilis en la vía biliar es similar a la del plasma, con una osmolaridad de aproximadamente 300 mOsm/kg. Los principales solutos orgánicos en la bilis son los ácidos biliares, pigmentos biliares, colesterol y fosfolípidos. La bilis se secreta por los hepatocitos hacia los canalículos biliares, solutos y agua. Los canalículos coalescen sucesivamente en conductos biliares de mayor tamaño, formando el árbol biliar intra y extrahepático. Se producen entre 800 y 1,500 cc de bilis al día, de la cual el 80% es secretada por los hepatocitos a los canalículos biliares. Las sales biliares provienen de la sangre sinusoidal, de donde son incorporadas al hepatocito por un sistema de transporte activo dependiente de ATP, para ser incorporados a la fracción microsomal y posteriormente son secretadas a los canalículos biliares por

un segundo sistema de transporte dependiente de ATP. La bilis pasa de los canalículos a los conductos biliares, donde es nuevamente es reabsorbida y secretada. Las células epiteliales conducto biliar reabsorben la bilis por transporte activo, secretando agua y electrolitos. La secreción es generalmente a través de un canal de cloruro activado por la secretina (el activador mas potente), y la subsiguiente activación de la producción de AMP cíclico. La vesícula biliar actúa como el reservorio de la vía biliar, además de que participa en la reabsorción de agua, concentra la bilis almacenada, y secreta mucina. La contracción de la vesícula biliar esta regulada por hormonas (sobre todo la colecistoquinina) en respuesta a los alimentos, con la relajación simultánea del complejo esfinteriano de Boyden y la liberación de bilis hacia el duodeno.^{22,23}

Circulación enterohepática.

Las sales biliares se producen principalmente en el hígado, y se secretan para ser utilizadas en la vía biliar y en el intestino. Las sales biliares primarias ácido cólico y ácido quenodesoxicólico se producen en el hígado a partir del colesterol, y posteriormente se conjugan con glicina o taurina dentro del hepatocito. Una vez en el intestino, los ácidos biliares primarios son modificados por las bacterias intestinales, formando los ácidos biliares secundarios (ácido desoxicólico y ácido litocólico). Los ácidos biliares se reabsorben en el yeyuno (transporte pasivo) y en el íleon (transporte activo) para reincorporarse a la circulación portal, donde el 90% es extraído por los hepatocitos, para ser secretados nuevamente a los canalículos biliares y a la vía biliar, completando el circuito. Una pequeña cantidad de los ácidos biliares no es absorbida en el intestino, y es excretada en las heces. La circulación enterohepática, además de ser el sistema de reciclaje de las sales biliares, constituye también el principal mecanismo para la eliminación del exceso de colesterol, tanto por su utilización para la producción de sales biliares, como por su acumulación en las micelas que son excretadas con las heces. Las sales biliares juegan también un papel fundamental en la absorción de las grasas de la dieta, vitaminas liposolubles, y de los fármacos lipofílicos.²⁴

Metabolismo de la bilirrubina.

La bilirrubina es el resultado del metabolismo del grupo hemo. El 20% del total de la bilirrubina proviene de enzimas que contienen al grupo hemo, y el 80% proviene de la eliminación de los glóbulos rojos. El grupo hemo se desdobla en biliverdina por la hemo-oxigenasa, para posteriormente transformarse en bilirrubina por la reductasa de biliverdina. La bilirrubina circulante se fija a la albúmina, viajando del espacio sinusoidal al espacio de Disse a través de las fenestraciones, en donde se separa de la albúmina para ser interiorizada al hepatocito. En el hepatocito, la bilirrubina se conjuga con el ácido glucurónico, y esa bilirrubina conjugada se secreta en por transporte activo dependiente de energía a los canalículos biliares. La bilirrubina se secreta entonces con la bilis al tracto intestinal. Dentro del tracto gastrointestinal, la bilirrubina es desconjugada por las bacterias intestinales formando urobilinógeno. El urobilinógeno también se oxida y reabsorbe por la circulación enterohepática, para ser nuevamente secretada a la bilis. Una pequeña parte del urobilinógeno reabsorbido se excreta en la orina, dando el color amarillo de la orina y el color marrón de las heces.²⁴

Metabolismo de carbohidratos.

El hígado es el principal regulador del almacenamiento y la distribución de la glucosa a los tejidos periféricos, particularmente al cerebro y a los eritrocitos. Tanto el hígado como el músculo son capaces de almacenar la glucosa en forma de glucógeno, pero sólo el hígado es capaz de desdoblar al glucógeno para liberar glucosa a la circulación sistémica. Los carbohidratos absorbidos por los intestinos que llegan al hígado se convierten rápidamente en glucógeno para su almacenamiento. El exceso de carbohidratos se convierten en su mayor parte a ácidos grasos y se almacenan en el tejido adiposo. En el estado postabsortivo, la ausencia de glucosa proveniente directamente del intestino induce el desdoblamiento del glucógeno, y el hígado pasa a ser la fuente primaria de glucosa circulante. Después de 48 horas de ayuno el glucógeno hepático se

agota, y la gluconeogénesis se convierte en la fuente principal de carbohidratos, siendo su principal sustrato los aminoácidos (principalmente la alanina) derivados del músculo, y del glicerol derivado del metabolismo de los lípidos. Durante el ayuno prolongado, los ácidos grasos del metabolismo de lípidos son oxidados en el hígado, produciendo cuerpos cetónicos.²⁵

Metabolismo de lípidos.

Los ácidos grasos se sintetizan en el hígado cuando hay un exceso de glucosa y la habilidad para almacenar glucógeno se ha excedido. Los ácidos grasos se sintetizan en el hígado y son almacenados en los adipocitos. Durante la lipólisis, los ácidos grasos son transportados al hígado, donde se metabolizan ya sea por esterificación con el glicerol para formar triglicéridos para su almacenamiento o transporte, o se oxidan liberando ATP y cuerpos cetónicos.²⁶ El constante movimiento de ácidos grasos entre el hígado y el tejido adiposo está regulado por un equilibrio delicado, el cual puede ser fácilmente alterado, teniendo como resultado la infiltración adiposa del hígado (esteatosis). Dentro de los factores que influyen en ese equilibrio, se encuentran los niveles plasmáticos de ácidos grasos o de triglicéridos, o el daño hepático crónico inducido por el alcohol.²⁶

Metabolismo de proteínas.

El hígado es también un sitio central para el metabolismo de las proteínas, participando en la síntesis, catabolismo y almacenamiento, y en la eliminación del nitrógeno y sus metabolitos. Las proteínas ingeridas se desdoblan en los aminoácidos que las constituyen, y circulan a través del cuerpo, donde son utilizados para la síntesis de proteínas, enzimas, hormonas y nucleótidos. Los aminoácidos excedentes no utilizados son oxidados por el hígado para la producción de energía o para su conversión en glucosa, cuerpos cetónicos o grasas. El catabolismo de los aminoácidos para la producción de energía produce amoníaco, glutamina, glutamato, y aspartato, los cuales se metabolizan en el

hígado para convertir al nitrógeno en urea (ciclo de la urea), para ser excretada por la orina.²⁷ El hígado sintetiza muchas proteínas que participan en múltiples funciones, como la coagulación, transporte, fijación de hierro, e inhibición de proteasas. La albúmina se produce exclusivamente en el hígado, y es la principal proteína de transporte. Las alteraciones de la función hepática pueden afectar la producción y la función de estas proteínas. El hígado es también responsable de la respuesta de fase aguda en respuesta al trauma o a la infección para restringir el daño a los distintos órganos, para mantener la función hepática, y para controlar los mecanismos de defensa. La respuesta es inducida por citocinas proinflamatorias como la interleucina (IL)-1, IL-6, y el factor de necrosis tumoral (FNT), quienes inducen la expresión de los genes que codifican para la síntesis de proteínas de fase-aguda. Algunas de las proteínas implicadas en la respuesta de fase-aguda son la α_1 , α_2 , y β globulina, la proteína C reactiva, y el amiloide sérico.²⁷

Metabolismo de vitaminas.

Las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) se obtienen en la dieta y son absorbidas en el intestino, y su absorción requiere de ácidos biliares. La vitamina A pertenece a la familia de los retinoides, y es necesaria para la visión normal, en el desarrollo embrionario, y en la regulación génica adulta de genes. El único reservorio de vitamina A es el hígado, específicamente en las células estelares. La ingesta de cantidades excesivas de vitamina A puede provocar toxicidad hepática. La vitamina D participa en la homeostasis del calcio y el fósforo, y en uno de los pasos de su activación (2,5-hidroxilación) ocurre en el hígado. La vitamina E es un potente antioxidante y protege a las membranas de la lipoperoxidación y la formación de especies reactivas de oxígeno. La vitamina K es un cofactor crítico en la síntesis de los factores hepáticos de la coagulación (factores II, VII, IX, X, proteína C, proteína S), llamados los factores vitamina K dependientes. La obstrucción de la vía biliar provoca la absorción inadecuada de estas vitaminas, produciendo una avitaminosis que condiciona trastornos como la enfermedad

metabólica de hueso (vitamina D), trastornos neurológicos (vitamina E) y coagulopatías (vitamina K).²⁸ El hígado también participa en la captura, almacenamiento y metabolismo de varias vitaminas hidrosolubles, como la tiamina, la riboflavina, la vitamina B6, la vitamina B12, el folato, la biotina y el ácido pantoténico. El hígado es el responsable de convertir algunas de estas vitaminas en coenzimas activas, en almacenar otras, y algunas participan en la circulación enterohepática (vitamina B12).

La coagulación

El hígado sintetiza casi todos los factores involucrados en la coagulación, así como muchos de los componentes de la fibrinólisis, y varias proteínas plasmáticas que regulan tanto a la coagulación como a la fibrinólisis. El hígado participa en la absorción de vitamina K, síntesis de los factores vitamina K dependientes, y activación de estos últimos. Adicionalmente, el sistema reticuloendotelial del hígado retira de la circulación a los factores procoagulantes activados, los complejos activados de los sistemas de coagulación y fibrinólisis, y los productos finales de la degradación de la fibrina.²⁸

Regeneración hepática

El hígado posee la extraordinaria capacidad de ajustar su volumen de acuerdo a las necesidades del cuerpo. Esto se expresa mediante el proceso de regeneración, que puede observarse posterior a una hepatectomía parcial o después de una lesión tóxica, o en el trasplante de hígado cuyo tamaño se ajusta a las necesidades del donador. La regeneración es una respuesta de hiperplasia de todos los tipos celulares, conservándose la anatomía funcional microscópica. Los hepatocitos entran en una fase de rápido crecimiento celular después de una hepatectomía parcial, con la máxima síntesis de ADN entre las 24 y 36 horas posteriores a la cirugía, prolongándose de 48 a 72 horas más en las otras estirpes celulares. Los factores circulantes identificados en esta respuesta son el factor de

crecimiento del hepatocito, el factor de crecimiento epidérmico, los factores de crecimiento transformantes, la insulina, el glucagón y las citocinas FNT, IL-1, e IL-6, aunque se desconocen todos los mecanismos por los que producen su efecto regenerativo.²⁹

Evaluación bioquímica de la función hepática.

Aminotransferasas.

Las aminotransferasas, incluyendo a la aminotransferasa del aspartato (AST, anteriormente TGO o transaminasa glutámico oxaloacética) y a la aminotransferasa de alanina (ALT, anteriormente TGPS, o transaminasa glutámico pirúvica) participan en la gluconeogénesis catalizando la transferencia de grupos amino del ácido aspártico o de la alanina al ácido cetoglutámico, para producir ácido oxaloacético y ácido pirúvico, respectivamente. La ALT es una enzima citosólica, mientras que la AST está presente tanto en el citosol como en la mitocondria. La elevación de la actividad de estas enzimas en el suero se debe a su salida de las células lesionadas, reflejando la lesión al hepatocito. Estas enzimas se elevan en diversas afecciones hepáticas, especialmente aquellas que se asocian con una necrosis significativa del hepatocito, como sucede en la hepatitis viral aguda y en la lesión química o isquémica.³⁰

Es importante resaltar que la ALT es relativamente específica del hígado, mientras que la AST se encuentra en el músculo esquelético y cardíaco, riñón, cerebro, páncreas y en las células sanguíneas, además de en los hepatocitos. Por lo tanto, la elevación aislada de AST debe confirmarse obteniendo los niveles de ALT para determinar si es de origen hepática, por lo que una elevación aislada o exagerada de AST debe incitar una búsqueda para fuentes extrahepáticas de esta aminotransferasa.

Niveles de AST y ALT

Son muchas las enfermedades hepáticas que pueden elevar moderadamente (<500 U/L) las aminotransferasas séricas. En la ausencia de otras alteraciones, los niveles de aminotransferasas son casi siempre menores a 300 U/L en pacientes con hepatitis alcohólica o con obstrucción biliar. Por otro lado, si se agregan a estas situaciones clínicas un afección principal aguda del hígado (como la lesión hepática inducida por paracetamol o la hepatitis viral), los niveles de transaminasas estarán muy elevadas, rebasando las 1000 U/L. Las aminotransferasas son indicadores muy sensibles de la necrosis hepatocelular, de hecho, empleándose comúnmente en trabajos de investigación para determinar el daño hepatocelular. Sin embargo, el grado de la elevación de aminotransferasas no se relaciona directamente con la extensión de la necrosis hepática.³⁰

Deshidrogenasa láctica.

La deshidrogenasa láctica (DHL) se encuentra presente en muchos tejidos, y se eleva en sangre cuando hay lesión del músculo esquelético o cardíaco, hemólisis, enfermedad cerebrovascular e infarto renal, además de la lesión hepática aguda y crónica. A pesar de ser poco específica, la DHL se utiliza como un indicador de lesión hepática en la hepatitis isquémica, con una característica y exagerada elevación en las primeras 24 a 48 horas posteriores a la lesión.³⁰

Isquemia y reperfusión.

Durante el período de isquemia, la interrupción del aporte de oxígeno y energía produce cambios funcionales a nivel tisular, entre los que destacan la disminución de la fosforilación oxidativa y alteración en las bombas membranales dependientes de ATP, alterando la homeostasis del calcio, sodio y agua. El ATP entra en una fase catabólica, y se produce una gran cantidad de moléculas y sustancias, como las especies reactivas de oxígeno, diversas citocinas, moléculas de adhesión y agentes vasoactivos (endotelina y tromboxano A₂), mientras que

simultáneamente, disminuye la producción de agentes que funcionan hasta cierto punto como factores citoprotectores (óxido nítrico, prostaciclina).^{5,31} Estos fenómenos se traducen en diversas alteraciones que en conjunto tienen un mismo efecto: la lesión tisular.

Factores documentados que participan en la lesión por isquemia-reperfusión

Alteraciones en la microcirculación.

Al reinstalar el flujo de sangre en el hígado isquémico, la reperfusión favorece la falla en la microcirculación⁴ prolongando el periodo isquémico por una serie de diversos mecanismos, entre los que destacan el edema de la célula endotelial,³² vasoconstricción,³³ atrapamiento de leucocitos^{34,35} y agregación plaquetaria dentro de los sinusoides hepáticos.³⁶

Durante el periodo isquémico, la ausencia de sustrato energético interfiere con el transporte activo transmembranal, favoreciendo el edema de las células de Kupffer (CK) y de las células endoteliales (CE).³⁷ La pérdida del delicado equilibrio entre la acción vasodilatadora del óxido nítrico (ON) y la vasoconstricción producida por la endotelina (ET) favorece la disminución del diámetro de los capilares sinusoidales, disminuyendo la velocidad del flujo de los leucocitos, y aproximándolos a la pared capilar.⁴ El aumento en el contacto entre los leucocitos y las CE por esta vasoconstricción acentúa la leucostasis, y aunque los leucocitos no ocluyen por completo la luz capilar, comprometen la microcirculación al interferir con el flujo adecuado de sangre por los capilares sinusoidales.³⁸ Esta falla en la microcirculación impide la perfusión de todo el tejido a pesar de la reinstalación del flujo sanguíneo, provocando áreas aún isquémicas a pesar de la reperfusión, en un fenómeno conocido como "no-reflujo" (no-reflow).^{4,39} La isquemia provoca la activación de las CK y los neutrófilos, produciendo y liberando citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral α (FNT- α), interleucinas (IL)

proinflamatorias como IL-6 e IL-1, prostaglandinas (PG), y radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ERO), particularmente el O_2^- y H_2O_2 .^{40,41,42,43,44}

Óxido nítrico y endotelina.

El ON se forma a partir de la L-arginina por la acción de la óxido nítrico sintasa (ONS), y una de sus funciones principales es la de actuar como mediador en la inmunomodulación, en la neurotransmisión, y en la agregación plaquetaria.^{5,45} A nivel endotelial, el ON tiene un efecto vasodilatador,^{43,46} utilizando al cGMP como segundo mensajero para producir múltiples reacciones intracelulares que provocan la reducción del tono vascular.^{5,43} El ON participa en la regulación de la lesión por IR al disminuir la adhesión de los leucocitos al endotelio, al interferir con la agregación plaquetaria, y al relajar las células estelares (células de Ito),^{4,36,47} cuya contracción responde a la ET-1,⁴⁸ resaltando la importancia del equilibrio entre la ET y el ON en la lesión por IR.^{4,46} Al inicio de la reperfusión, los niveles de ON disminuyen y los de ET aumentan, disminuyendo el flujo sanguíneo en la microcirculación.^{49,50} La isquemia reduce el aporte de cofactores para la síntesis del ON (principalmente NADPH intracelular y oxígeno)⁵¹ y favorece la liberación de grandes cantidades de arginasa,^{4,52} lo que se traduce en una disminución importante de la síntesis del ON y un aumento en la degradación de su precursor directo (L-arginina), respectivamente.^{4,49,50} Para la producción de cantidades significativas de ON ante un estímulo como la IR, se necesita sintetizar de novo a la enzima ONS inducible (ONSi), proceso que tarda entre 4 y 6 horas.^{43,53}

Citocinas.

Las citocinas juegan un papel fundamental en la lesión por IR,⁵⁴ ya que inician y mantienen la respuesta inflamatoria, induciendo a su vez múltiples sustancias que participan de la misma manera en la severidad de la respuesta inflamatoria.^{52,55} Las citocinas más estudiadas son el FNT- α y las interleucinas 1 y 6. Estas citocinas tienen gran actividad proinflamatoria, induciendo la síntesis de IL-8⁵⁶ y la

expresión de moléculas de adhesión (β -selectinas e integrinas) favoreciendo la interacción entre los leucocitos y las CE.⁵⁷ Estos factores, junto con otras quimiocinas y factores del complemento, también reclutan leucocitos polimorfonucleares^{5,29} que infiltran al hígado, perpetuando y amplificando el daño por la liberación adicional de ERO, FNT- α y diversas proteasas.^{55,58} El FNT- α induce por sí solo la quimiotaxis y activación de leucocitos³⁹ e induce la producción de ERO por las CK.⁵⁹ La IL-1 induce a su vez la producción de FNT- α por las CK y amplifica la producción de ERO por los neutrófilos.^{40,56,60} Ambas citocinas están aumentadas durante la IR hepática,^{61,62} y su neutralización disminuye la intensidad de la gravedad de la lesión por IR.^{40,58}

Células de Kupffer.

La activación de la CK en las etapas iniciales de la reperfusión^{38,63} se identifica con la aparición de vacuolas en el citoplasma, causando la protrusión de la célula a la luz de los sinusoides, dificultando el flujo sanguíneo en la luz sinusoidal.^{5,37} Cuando son activadas, las CK liberan una gran cantidad de mediadores proinflamatorios (FNT- α , IL-6, IL-1 y prostaglandinas), mediadores antiinflamatorios (IL-10, IL-13), y ERO.^{41,42} La supresión de la actividad de las CK, así como la potenciación de la misma, puede atenuar o agravar la lesión por IR respectivamente.^{60,64} En los hígados destinados para trasplante, los efectos de la preservación en frío resultan en una mayor activación de las CK,⁵⁸ por lo que la modulación de la actividad de las CK puede atenuar el daño por IR en órganos trasplantados y por consecuencia, mejorar la sobrevida de dicho órgano.

Especies reactivas de oxígeno y el estrés oxidativo.

Los radicales libres son átomos con un electrón desapareado en su orbital externo, lo que les hace ser muy reactivos.⁶⁵ Los radicales libres de oxígeno, o especies reactivas de oxígeno (ERO) incluyen al anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH \cdot) y sus derivados como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Carecen de

una actividad específica mediada por receptores, sino que ejercen su reactividad química con cualquier compuesto que encuentren.⁶⁶ En situaciones normales, el metabolismo aeróbico genera ERO, los cuales se neutralizan por diversos mecanismos antioxidantes.^{4,5} En situaciones de estrés, el equilibrio entre los factores antioxidantes y los oxidantes se altera, siendo estos últimos los que prevalecen. Este fenómeno, planteado en 1985 por H Sies⁶⁷ como "estrés oxidativo" genera diferentes grados de citotoxicidad,⁶⁸ lesionando a los ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y carbohidratos.⁶⁹ Si la severidad del estrés oxidativo es muy grande, todas las estructuras celulares importantes (particularmente las mitocondrias y proteínas del citoesqueleto), las macromoléculas (DNA, lípidos, enzimas) y vías metabólicas se oxidan, se lesionan, y posteriormente bloqueadas o inhibidas, dando lugar a la muerte celular por necrosis.⁶⁷ 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 muerte celular programada.^{67,70} En la membrana celular, las moléculas diana del estrés oxidativo son los ácidos grasos poliinsaturados, lo que altera la funcionalidad de la membrana.⁷¹

Algunos de los mecanismos que participan en la síntesis de ERO son los siguientes:

- 1) Transformación de la xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa por proteasas dependientes del Ca^{2+} . En presencia de oxígeno (como sucede en la reperfusión), la hipoxantina se oxida generando ácido úrico, generando O_2^- y H_2O_2 en el proceso.⁷²
- 2) Aumento en la actividad de la NADPH oxidasa por la activación de las CK y los neutrófilos.
- 3) Producción de ON y su conversión en peroxinitrito, ambos considerados especies reactivas del nitrógeno.^{68,88,89}

Durante la IR, todos estos procesos han sido documentados tanto en formas directa como indirecta, y como consecuencia, el tejido hepático sufre las

repercusiones citotóxicas de la nitrosilación de grupos hierro-sulfuro y residuos de tirosina, inactivación del grupo hem, y peroxidación de lípidos.^{4,5,42,68,69} Al documentar la presencia y participación de estos efectos oxidantes, es lógico pensar en la utilidad de agentes antioxidantes para disminuir el daño en los mecanismos de IR. Es así que el α -tocoferol,⁷³ el alopurinol,^{74,75} la N-acetilcisteína,⁷⁶ y las enzimas superóxido dismutasa (SOD)⁷⁷ y catalasa,^{74,78} empleados como antioxidantes, han logrado disminuir de manera significativa la severidad del daño por IR. Sin embargo, Marubayashi y colaboradores han demostrado que los niveles de los antioxidantes endógenos disminuyen durante el período de reperfusión,^{70,79} posiblemente por degradación de los mismos por un aumento en la actividad de las ERO, y por lo que la administración de los mismos, particularmente en las etapas iniciales de la reperfusión, puede disminuir de manera significativa el daño por IR en hígados trasplantados.

Debido a que la detección de las ERO es muy difícil por lo corto de su vida media,⁶³ en la práctica se utilizan indicadores químicos indirectos para la cuantificación de las ERO. Normalmente se determinan los productos de reacción de las ERO con los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares (lipoperoxidación) como el malondialdehído (MDA) y las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés).⁸⁰ Mediante la determinación de estos indicadores se ha observado una asociación fenomenológica entre el estrés oxidativo y la IR.⁷⁸

Neutrófilos.

Los neutrófilos activados contribuyen al daño por IR por la liberación de ERO y diversas proteasas.⁴ Los neutrófilos se acumulan en el hígado desde las etapas iniciales de la reperfusión,⁴ y su adhesión a las CE está mediada por selectinas e integrinas expresadas en la membrana del neutrófilo, y por moléculas de adhesión intercelular (ICAM, por sus siglas en inglés) expresadas en las CE.^{81,82} El FNT- α y la IL-1 aumentan la expresión de ICAM-1 en las CE⁵⁵ hepáticas, y se ha

documentado el aumento de ICAM-1 con la IR.⁸³ De hecho, se ha relacionado el aumento de la expresión del ICAM-1 con el rechazo agudo de hígados trasplantados.^{60,84} La neutralización del ICAM-1 ha logrado disminuir la severidad del daño por IR.^{85,86}

Factores del complemento.

Se ha demostrado la activación del sistema del complemento en la IR, y su participación en este fenómeno es tanto de manera directa, por la formación del complejo de ataque a la membrana característica de este sistema y por su ensamblaje y depósito en las membranas,⁸⁷ como indirecta, estimulando la producción de agentes quimiotácticos y citocinas proinflamatorias, así como la migración y adhesión de leucocitos^{88,89} favoreciendo el reclutamiento de los neutrófilos en los sinusoides.⁸⁶

Homeostasis del calcio.

El Ca^{2+} fue uno de los primeros factores implicados en la IR, al lograr la disminución de la intensidad de la lesión por IR empleando bloqueadores de los canales de Ca^{2+} .⁹⁰ En la IR, el Ca^{2+} es necesario para la activación de fosfolipasas, nucleasas y proteasas calcio-dependientes, y participa en la interrupción a nivel mitocondrial de la fosforilación oxidativa, disminuyendo los niveles de ATP.⁸⁷

Plaquetas.

La adhesión de las plaquetas en los sinusoides hepáticos participa directamente en la muerte programada de las CE al momento de la reperfusión en órganos destinados para trasplante.⁹¹ Las plaquetas además participan con la producción de citocinas como el factor de crecimiento transformante- β (TGF- β , por sus siglas en inglés) y calpaínas,⁹² además del ON, que junto con las ERO liberadas en la IR,

dan lugar a la formación de peroxinitrito, un potente inductor de la muerte celular programada en las CE.^{93,94}

Adenosina.

La adenosina es un compuesto endógeno que se produce del metabolismo enzimático sobre el ATP, ADP y AMP.⁴ La adenosina en niveles elevados confiere ciertos efectos protectores a la isquemia, inhibiendo la agregación plaquetaria,⁹⁵ la activación de neutrófilos⁹⁶ y la producción de ET y ERO,^{93,97} mientras que aumenta la producción de ON.⁹⁴ Durante los periodos de isquemia, la adenosina es transportada al espacio intracelular y se convierte a inosina.⁴ Con la reperfusión, la inosina puede eliminarse por completo del órgano por acción mecánica⁹⁸ (eliminando por completo su actividad protectora ante la IR) o puede participar en la síntesis de ERO al convertirse a hipoxantina y xantina.⁹⁹

Factores de transcripción.

Cuando el hígado se somete a un periodo isquémico, las alteraciones inducidas por el estrés oxidativo pueden superar la capacidad de compensación del tejido hepático, provocando la muerte celular.⁵ Por otro lado, el estímulo puede reprogramar la expresión génica de las células sobrevivientes, iniciando mecanismos celulares para regenerarse y remodelarse.¹⁰⁰ Uno de estos factores, el factor nuclear κ B (FN- κ B), participa, hasta cierto punto, en la inducción de ONS, citocinas como el FNT- α , quimiocinas y moléculas de adhesión como el ICAM-1.^{101,102} El FN- κ B normalmente se encuentra en el citoplasma fijo a la proteína inhibidora I κ B.¹⁰³ Durante el estrés oxidativo, la I κ B se degrada permitiendo la traslocación del FN- κ B al núcleo.^{99,100} Entre los diversos mecanismos descritos por los que se activa el FN- κ B resaltan sobretodo las ERO, particularmente el H₂O₂,¹⁰⁴ y se ha documentado la disminución de su activación con la administración de antioxidantes.⁹⁸ El FN- κ B se activa en dos momentos diferentes de la IR, con diferentes acciones: en la fase temprana (entre los 30 minutos y las 3

horas de la reperfusión) favorece el aumento de la expresión de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL.6 y FNT α), mientras que en la fase tardía (entre las 9 y las 12 horas posteriores a la reperfusión), participa de manera antiinflamatoria.¹⁰⁵ Otros genes que pueden participar en la IR incluyen a los de la ET-1, ONS3, hemo-oxigenasa y las del factor de estrés térmico.^{5,106} En todas estas vías se ha descrito la activación o modulación de su expresión por ERO.

Apoptosis y necrosis.

Como ya se ha comentado, el FNT- α juega un papel importante en los procesos implicados en el daño por IR. En los hepatocitos y en las CE, el FNT- α es un iniciador de la muerte celular programada, o apoptosis.¹⁰⁷ Durante la reperfusión, se activan muchas de las proteínas involucradas en la apoptosis, como las proteasas caspasa-3 y caspasa-8, y las mitocondrias liberan al citocromo-c al citoplasma.¹⁰⁸ La cascada de eventos que inicia con la activación de estas sustancias, culmina con la destrucción del ADN y la muerte celular. Con esto en mente, es lógico pensar que la apoptosis es el efector final en la muerte celular por IR. Sin embargo, y a pesar de que la supresión de la apoptosis mejora la supervivencia tras la isquemia y disminuye el daño por la reperfusión,^{102,109,110,111} algunos investigadores han documentado que el hallazgo predominante en la IR son alteraciones necróticas masivas¹¹², particularmente en hígados esteatóticos. Ante esta controversia, Lemasters en 1999 planteó la teoría de la "necroapoptosis",¹¹³ en la cual resalta los principales mecanismos que participan en la IR a nivel celular, planteando la posibilidad de que ambos mecanismos de muerte celular, la necrosis y la apoptosis, se presenten simultáneamente durante la isquemia y que incluso se imbrican durante la reperfusión¹¹³ (figura 5). El estímulo inicial puede culminar ya sea en lisis celular (necrosis) o en muerte celular programada (apoptosis), de acuerdo a la interacción con otros factores determinantes, como lo son la disminución de los niveles de ATP¹¹⁴ o el contenido hepático de grasa.¹¹⁵

Figura 5.

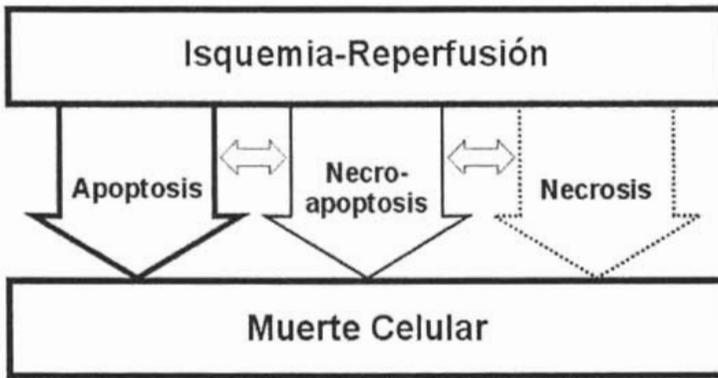


Figura 5. Teoría de la necroapoptosis de Lemasters.¹¹³

Manipulación quirúrgica del hígado y congestión esplácnica

Cuando en un procedimiento quirúrgico se pinza la triada portal (maniobra de Pringle) con la finalidad de disminuir el flujo sanguíneo al hígado y controlar el sangrado, el pinzamiento provoca dos lesiones específicas. La primera, la isquemia y la posterior reperfusión, ya han sido tratadas con detalle. La segunda, la congestión venosa en todo el lecho esplácnico por debajo del sitio del pinzamiento.

La venoestasis esplácnica originada por la oclusión de las vías eferentes de las vísceras intestinales provoca la congestión de la pared del intestino, lo que a su vez condiciona la pérdida de la integridad de la barrera intestinal, provocando el paso de bacterias de la luz intestinal a la circulación portal (traslocación bacteriana), la liberación de mediadores bioquímicos inflamatorios y especies reactivas de oxígeno, agravando a su vez la lesión hepática.¹¹⁶ La congestión esplácnica también origina un secuestro de plasma a nivel intestinal, condicionando una disminución en la volemia efectiva, originando un descenso en el flujo sanguíneo hepático durante la reperfusión.¹¹⁷

Algunos mamíferos de experimentación, como las ratas, son particularmente susceptibles a la congestión esplácnica, con mortalidad de hasta el 50%.¹¹⁸ Para contrarrestar esta circunstancia, se han propuesto mecanismos específicos que buscan disminuir la estasis venosa en el lecho esplácnico, como el desarrollo de cortocircuitos porto sistémicos, o la realización de isquemia parcial de los segmentos hepáticos no sometidos a la isquemia.¹¹⁹

Consideraciones especiales sobre la anatomía hepática de las ratas.

Aunque las funciones son relativamente similares, la anatomía hepática es diferente visiblemente entre las distintas especies de mamíferos. En particular, el hígado de la rata difiere del humano en su distribución morfológica, con un patrón multilobulado, como se aprecia en la figura 6.

Figura 6.

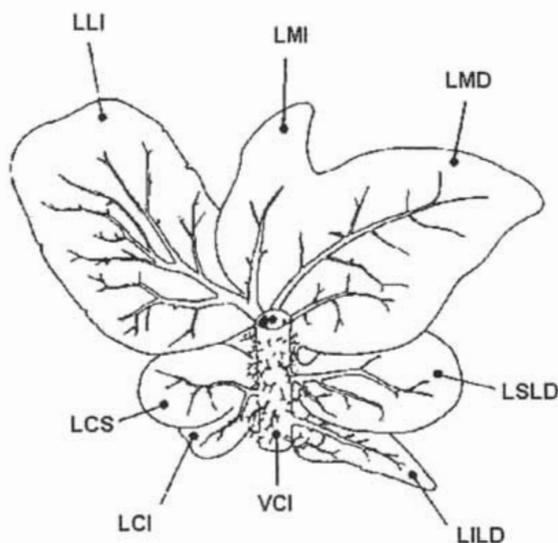


Figura 6. Representación esquemática del hígado de la rata. LLI: lóbulo lateral izquierdo; LMI: lóbulo medio izquierdo; LMD: lóbulo medio derecho; LSLD: lóbulo superolateral derecho; LILD: lóbulo inferolateral derecho; LCI: lóbulo caudado inferior; LCS: lóbulo caudado superior; VCI: vena cava inferior.²⁴

JUSTIFICACIÓN

La morbilidad asociada con el trasplante de hígado, las resecciones hepáticas mayores y los traumatismos hepáticos, es en gran parte resultado de los fenómenos involucrados tanto en la IR, como a los efectos lesivos de la congestión venosa en el lecho esplácnico, favoreciendo incluso la traslocación bacteriana. Las enzimas de escape a nivel hepático son un parámetro indirecto para evaluar la intensidad de la lesión hepática en el postoperatorio, como los valores de AST, ALT y DHL séricos. La medición de MDA es una técnica útil para inferir la intensidad de la lesión inducida por ERO provenientes tanto del hígado (producida por la IR), como del intestino (secundaria a la congestión esplácnica). Por lo tanto, el evitar la congestión esplácnica en el proceso de IR hepática disminuirá los marcadores indirectos de daño oxidativo a nivel hepático.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Se modificará la intensidad de la lesión por IR en un modelo experimental de isquemia hepática parcial?

Se desconoce hasta el momento el grado de participación de la congestión esplácnica en la lesión por IR. La evaluación de los cambios en los niveles de los marcadores de lesión hepática (AST, ALT y DHL) producidos por la IR, así como de los valores de MDA como indicador de lipoperoxidación, permitirán demostrar el papel que juega la congestión esplácnica en la intensidad de la lesión por IR en las primeras 24 horas posteriores a un evento isquémico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Comparar la severidad de la lesión por IR en base a las elevación de las enzimas hepáticas (AST, ALT y DHL) y a los indicadores indirectos de lipoperoxidación (MDA) en un modelo experimental de isquemia hepática total versus parcial.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Analizar los cambios que se generan en la IR sobre la AST, ALT y DHL en un modelo experimental de isquemia hepática total en las primeras 24 horas posteriores al evento isquémico.
- Analizar los cambios que se generan por acción de las ERO en los lípidos de las membranas celulares mediante la determinación de MDA en un modelo experimental de isquemia hepática total en las primeras 24 horas posteriores al evento isquémico.
- Analizar los cambios que se generan en la IR sobre la AST, ALT y DHL en un modelo experimental de isquemia hepática parcial en las primeras 24 horas posteriores al evento isquémico.
- Analizar los cambios que se generan por acción de las ERO en los lípidos de las membranas celulares mediante la determinación de MDA en un modelo experimental de isquemia hepática parcial en las primeras 24 horas posteriores al evento isquémico.

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. Un grupo de 220 ratas entre 250 y 350 gramos de peso fueron distribuidas de manera aleatoria en dos grupos, un grupo control (n=100), destinado a la realización de isquemia hepática total, y un grupo experimental (n=100) en el cual se realizó isquemia parcial. Las ratas fueron anestesiadas con ketamina y xylazina intraperitoneal. Se realizó tricotomía de la pared anterior, y se realizó una laparotomía media supra e infraumbilical por planos hasta llegar a la cavidad abdominal.

- Grupo control: se identificó posteriormente la triada portal y se colocó un clamp vascular sobre la misma, tras lo cual se irrigó la cavidad con 1 cc de solución de NaCl al 0.9% estéril a 36.5°C, y se cerró la laparotomía en un solo plano con material sintético no absorbible, trasladándose a las ratas a una cuna térmica. Al cabo de unos minutos, fueron sometidas a una nueva laparotomía aún bajo los efectos de la anestesia, en la cual se retiró el clamp vascular exactamente a los 30 minutos de haber sido colocado, iniciando el tiempo de reperfusión. Las ratas se dividieron en 5 grupos (n=20 por grupo) para la toma de muestras, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1.

Grupo	Tiempo	n
Control 1	1 hora	20
Control 2	2 horas	20
Control 4	4 horas	20
Control 12	12 horas	20
Control 24	24 horas	20

Tabla 1. Distribución de los subgrupos en el grupo control de acuerdo al tiempo de obtención de muestras posterior a la reperfusión. n: número de ratas.

Para la obtención de las muestras, las ratas fueron nuevamente anestesiadas con xylazina y ketamina intraperitoneal, y fueron nuevamente laparotomizadas. Se obtuvo una muestra de aproximadamente 0.5 g de hígado en una localización proximal al hilio, la cual se irrigó y perfundió con solución salina y posteriormente fue destinada para la determinación de MDA. Simultáneamente, se obtuvo una muestra de sangre venosa directamente en la vena cava inferior, la cual se destinó para la determinación de AST, ALT y DHL, tras lo cual cada rata fue sometida a eutanasia con una dosis letal de pentobarbital.

- Grupo experimental: se identificó la triada portal y posteriormente se diseccionó en sentido cefálico hasta identificar el pedículo vascular de los lóbulos mediano y anterior derecho, colocando un clamp vascular sobre este pedículo logrando interrumpir el flujo de sangre a estos lóbulos. Se irrigó la cavidad con 1 cc de solución de NaCl al 0.9% estéril a 36.5°C, y se cerró la laparotomía en un solo plano con material sintético no absorbible, trasladándose a una cuna térmica. Al cabo de unos minutos, fueron sometidas a una nueva laparotomía aún bajo los efectos de la anestesia, en la cual se retira el clamp vascular exactamente a los 30 minutos de reperfusión. Inmediatamente después se resecaron los lóbulos normoperfundidos ligándolos en su origen con seda 000. Las ratas se dividieron en 5 grupos (n=20 por grupo) para la toma de muestras, como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2.

Grupo	Tiempo	n
Experimental 1	1 hora	20
Experimental 2	2 horas	20
Experimental 4	4 horas	20
Experimental 12	12 horas	20
Experimental 24	24 horas	20

Tabla 2. Distribución de los subgrupos en el grupo experimental de acuerdo al tiempo de obtención de muestras posterior a la reperfusión. n: número de ratas.

Para la obtención de las muestras, las ratas fueron nuevamente anestesiadas con xylazina y ketamina intraperitoneal, y fueron nuevamente laparotomizadas. Se obtuvo una muestra de aproximadamente 0.5 g de parénquima hepático de uno de los lóbulos sometidos a isquemia, y una muestra de sangre con las mismas técnicas que en el grupo control. Las ratas fueron posteriormente sometidas a eutanasia con una dosis letal de pentobarbital.

Las muestras obtenidas de sangre y tejido hepático de cada rata fueron destinadas para la determinación de enzimas e indicadores de lipoperoxidación, respectivamente, como a continuación se enumera:

- AST, ALT y DHL. Las muestras de sangre fueron centrifugadas inmediatamente posterior a 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 la totalidad de las muestras, el plasma fue descongelado a temperatura ambiente y procesado en el laboratorio utilizando un espectrofotómetro con reactivos específicos para AST, ALT y DHL (Bayer, México). Los resultados están reportados en UI/mL.
- MDA. Las muestras de 0.5 g de tejido hepático fueron enfriadas inmediatamente posterior a su obtención con agua helada a 4°C , para posteriormente ser lavadas con suero fisiológico y homogenizado en un buffer de fosfatos. Para el patrón de la curva de calibración se empleó un análogo químico del MDA, el ácido tiobarbitúrico (TBA, Sigma Chemical, USA). La reacción de calor se desarrolló durante 45 minutos en baño maría a temperatura de ebullición. A continuación se añaden 4 mL de N-butanol y piridina para extraer el complejo con el TBA 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.

Material y métodos

Cabe señalar que se realizó un grupo simulado o *sham* (n=20) que fue sometido a la anestesia, laparotomía, irrigación, cierre de la cavidad, relaparotomía y obtención de muestras según las técnicas ya descritas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se compararon el grupo control contra el grupo experimental, analizando en cada grupo la elevación de las enzimas AST, ALT y DHL así como del MDA con promedios y error estándar. De acuerdo a los hallazgos, se utilizó la prueba de χ^2 para establecer diferencias, considerando un valor de p menor a 0.5 como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

La tabla 3 muestra los valores de AST, ALT, DHL y MDA en el grupo sometido a isquemia total. La tabla 4 muestra los valores de AST, ALT, DHL y MDA en el grupo sometido a isquemia parcial.

Tabla 3.

Grupo	AST	ALT	DHL	MDA
Control 1	1866.11 (±416.14)	2041.19 (±254.16)	5198.77 (±673.21)	1.13 (±0.09)
Control 2	2338.99 (±297.03)	3271.52 (±199.97)	6731.04 (±488.47)	1.36 (±0.11)
Control 4	2241.65 (±316.68)	3681.10 (±323.55)	6208.94 (±366.95)	1.02 (±0.07)
Control 12	1952.18 (±178.64)	2435.02 (±201.74)	4626.30 (±291.86)	0.91 (±0.05)
Control 24	1679.84 (±163.79)	1998.74 (±191.11)	4001.08 (±215.33)	0.84 (±0.04)

Tabla 3. Niveles de AST, ALT, DHL y MDA en los 5 subgrupos del grupo control. Se muestran los valores promedio para cada grupo, con los límites de distribución entre paréntesis. AST: aspartato-aminotransferasa (UI/mL); ALT: alanino-aminotransferasa (UI/mL); DHL: deshidrogenasa láctica (UI/mL); MAD: malondialdehído (mM/mg de proteína).

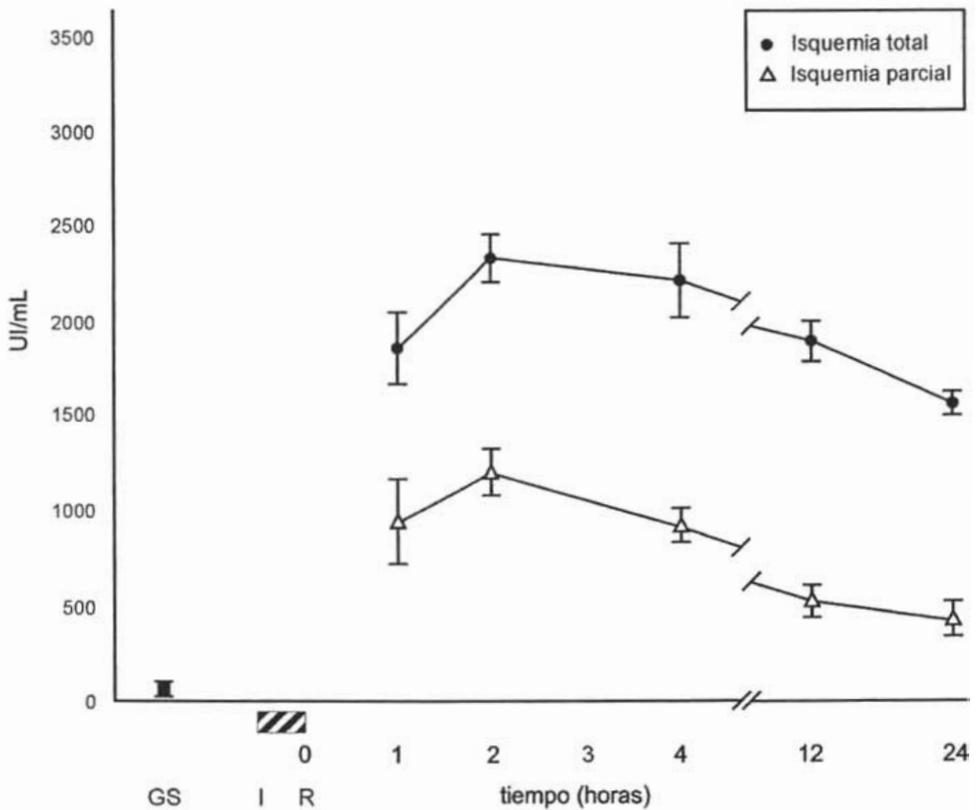
Tabla 4.

Grupo	AST	ALT	DHL	MDA
Experimental 1	933.04 (±216.47)	1137.27 (±168.59)	2981.06 (±433.27)	0.78 (±0.10)
Experimental 2	1206.73 (±302.50)	1689.31 (±224.80)	3899.67 (±375.61)	0.94 (±0.06)
Experimental 4	898.17 (±99.94)	1137.03 (±121.72)	3083.34 (189.92)	0.82 (±0.03)
Experimental 12	533.83 (±82.33)	724.13 (±102.98)	2066.69 (±100.43)	0.70 (±0.02)
Experimental 24	408.91 (±94.72)	482.14 (68.17)	1908.02 (97.35)	0.64 (±0.02)

Tabla 4. Niveles de AST, ALT, DHL y MDA en los 5 subgrupos del grupo experimental. AST: aspartato-aminotransferasa (UI/mL); ALT: alanino-aminotransferasa (UI/mL); DHL: deshidrogenasa láctica (UI/mL); MAD: malondialdehído (mM/mg de proteína).

La gráfica 1 muestra los valores de AST entre el grupo control y el grupo experimental.

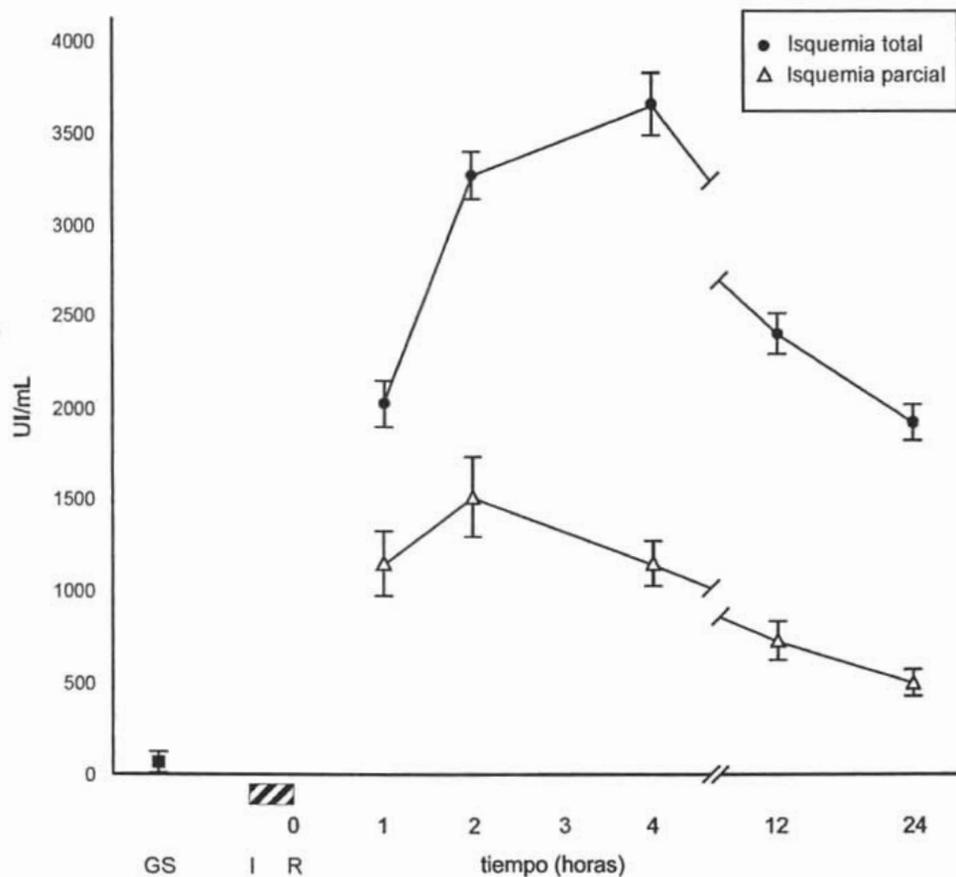
Gráfica 1.



Gráfica 1. Valores de aspartato-aminotransferasa en las ratas sometidas a isquemia hepática total y parcial. GS: grupo simulado; I: inicio de la isquemia; R: inicio de la reperusión.

La gráfica 2 muestra los valores de ALT entre el grupo control y el grupo experimental.

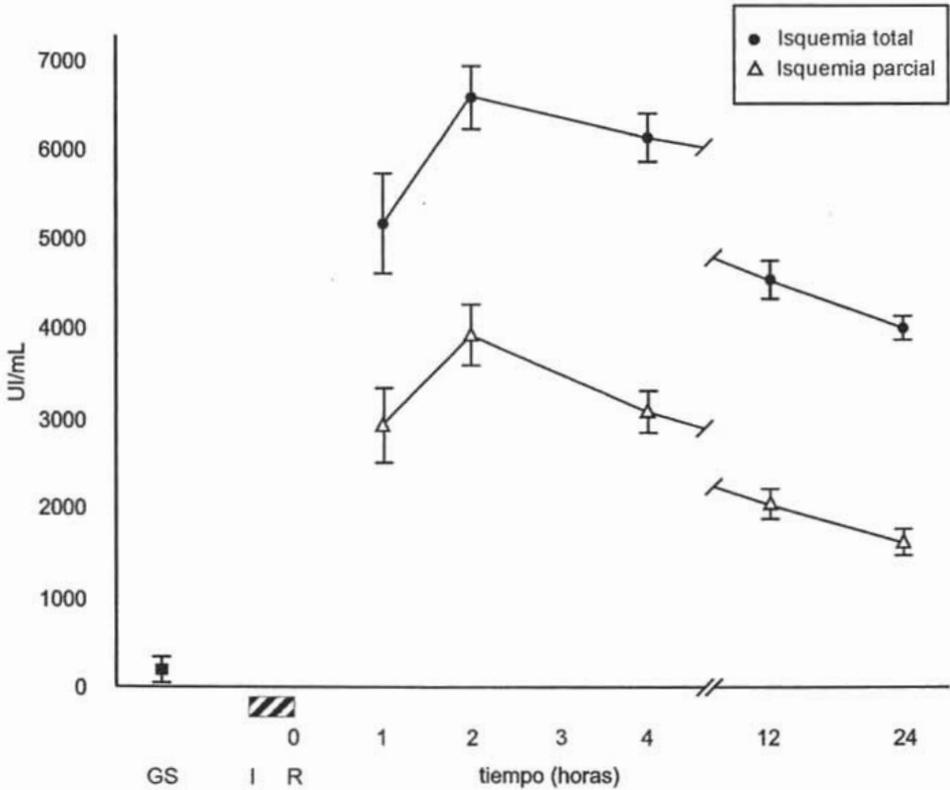
Gráfica 2.



Gráfica 2. Valores de alanina-aminotransferasa en las ratas sometidas a isquemia hepática total y parcial. GS: grupo simulado; I: inicio de la isquemia; R: inicio de la reperusión.

La gráfica 3 muestra los valores de DHL entre el grupo control y el grupo experimental.

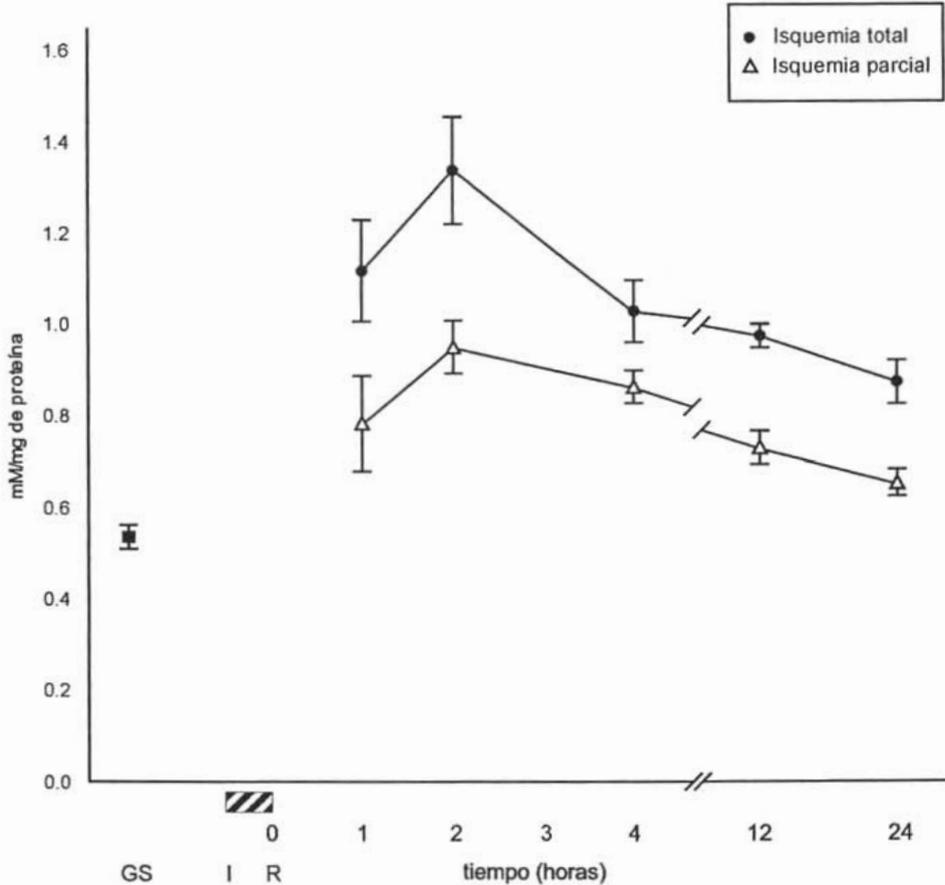
Gráfica 3.



Gráfica 3. Valores de deshidrogenasa láctica en las ratas sometidas a isquemia hepática total y parcial. GS: grupo simulado; I: inicio de la isquemia; R: inicio de la reperusión.

La gráfica 4 muestra los valores de MDA entre el grupo control y el grupo experimental.

Gráfica 4.



Gráfica 4. Valores de manodialdehído en las ratas sometidas a isquemia hepática total y parcial. GS: grupo simulado; I: inicio de la isquemia; R: inicio de la perfusión.

Como se aprecia en la tabla 3, la isquemia total por un lapso de 30 minutos eleva de manera significativa las enzimas AST, ALT y DHL. Estos hallazgos demuestran la lesión hepática inducida por la isquemia-reperusión.

En la tabla 4, los niveles son significativamente menores, fenómeno que podemos atribuir a la ausencia de ERO producidas por la congestión venosa en el lecho esplácnico.

Como se muestra en las gráficas 1 a 3, la elevación de las enzimas hepáticas es significativamente menor en el grupo experimental, particularmente la ALT, con una diferencia significativa de $p=0.01$. En el caso de los indicadores de lipoperoxidación, la isquemia parcial muestra valores de MDA por debajo de los encontrados en la isquemia total ($p=0.001$).

DISCUSION

La lesión por isquemia y reperfusión es un factor importante en la morbimortalidad de los pacientes sometidos a cirugía hepática de diversos tipos, particularmente en el trasplante de hígado.^{3,6} La isquemia-reperfusión favorece la producción de especies reactivas de oxígeno, las cuales, junto con muchos otros mecanismos, lesionan directamente a los hepatocitos y las células endoteliales,^{4,5,42,68,69} traduciéndose en alteraciones en la funcionalidad del órgano, comprometiendo así su viabilidad. De la misma manera, la interrupción del riego sanguíneo al hígado (maniobra de Pringle) provoca una congestión venosa en el lecho esplácnico por debajo del sitio de oclusión, lo que favorece la traslocación bacteriana y la generación de ERO a nivel intestinal, acentuando la intensidad de la lesión a nivel hepático.^{117,119} Una manera de disminuir el grado de isquemia hepática y evitar la congestión esplácnica, es permitir que el hígado permanezca perfundido durante la cirugía, disminuyendo considerablemente la intensidad de la lesión por isquemia y reperfusión, y favoreciendo el flujo de sangre hepatópeto desde el intestino. Este estudio demuestra la manera en la que la isquemia hepática parcial disminuye la intensidad de la lesión por isquemia-reperfusión, principalmente por la disminución en la producción de especies reactivas de oxígeno y las consecuencias bioquímicas de esa disminución (una menor elevación de las enzimas hepáticas indicadoras de lesión hepatocelular y niveles inferiores de los marcadores indirectos de la lipoperoxidación de las membranas celulares). En este estudio, se demuestra que el malondialdehído, sustancia que se libera cuando las especies reactivas de oxígeno oxidan los ácidos grasos de la membrana celular,^{78,80} disminuye considerablemente cuando el hígado se somete a isquemia parcial cuando se compara con la isquemia total. Los mecanismos por los que disminuye la lipoperoxidación se desconocen por completo, pero se sabe que la congestión venosa en el lecho esplácnico juega un papel muy importante en la morbimortalidad asociada a la isquemia total.^{118,119}

Este modelo experimental además posee una particularidad técnica que debe resaltarse. Debido a la distribución anatómica del hígado de la rata, la realización de la isquemia parcial es relativamente sencilla. Al excluir por completo dos lóbulos hepáticos y someterlos a isquemia, se producen en esos lóbulos los mismos efectos que se producen en un hígado que se somete a trasplante. La ausencia de la congestión esplácnica permite estudiar a los cambios ocurridos en los lóbulos isquémicos, de modo que su origen radique efectivamente en la isquemia y reperfusión, sin la presencia de otros factores agregados a nivel intestinal o sistémico.

Será conveniente el estudio comparativo de los mecanismos involucrados en el acondicionamiento hepático como una alternativa viable en el manejo de la patología quirúrgica del hígado.

CONCLUSIÓN

La isquemia parcial del hígado evita la congestión esplácnica, lo que impide la formación de especies reactivas de oxígeno a nivel intestinal y la traslocación bacteriana a la circulación portal. Con los resultados obtenidos en este trabajo, se demuestra la capacidad de la isquemia parcial para disminuir de manera significativa la intensidad del daño producido por la isquemia total en un modelo experimental de isquemia y reperfusión hepática. En relación a las variables estudiadas, la isquemia parcial disminuye de manera significativa la lipoperoxidación de las membranas celulares producida por especies reactivas de oxígeno. Si las membranas permanecen viables, entonces se mantiene la integridad del parénquima hepático, traduciéndose en una menor elevación de las enzimas hepáticas en el periodo postoperatorio, como también se corrobora en este estudio. Aunque los mecanismos involucrados aún no se conocen por completo, este estudio resalta la importancia de la congestión esplácnica como factor copartícipe en el grado de severidad de la lesión por IR hepática. Por lo tanto, en situaciones clínicas que conlleven la interrupción del flujo sanguíneo al hígado, debe tenerse en mente el beneficio que puede obtenerse con la interrupción parcial del flujo sanguíneo. Este estudio despierta el interés de realizar estudios controlados para determinar su aplicabilidad en la práctica clínica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Huguet C, Addario-Chieco P, Gavelli A, et al. Technique of hepatic vascular exclusion for extensive liver resection. *Am J Surg* 1992;163:602-5.
- ² Delva E, Camus Y, Nordlinger B, et al. Vascular occlusion for liver resections. Operative management and tolerance to ischemia: 142 cases. *Ann Surg* 1989;209:211-8.
- ³ Powner DJ. Factors during donor care that may affect liver transplantation outcome. *Prog Transpl* 2004;14:241-249.
- ⁴ Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *A J Surg*. 2001;181:160-6.
- ⁵ Romanque PU, Uribe MM, Videla LA. Mecanismos moleculares en el daño por isquemia-reperfusión hepática y en el precondicionamiento hepático. *Rev Méd Chile* 2005;133:469-76.
- ⁶ Henderson JM. Liver transplantation and rejection: an overview. *Hepato-Gastroenterol* 1999;46(suppl 2):1482-4.
- ⁷ D'Angelica M, Fong Y: The Liver. En: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL (editores): *Sabiston Textbook of Surgery*, 17a ed. Philadelphia, WB Saunders. 2004. pp 1513-67.
- ⁸ Blumgart LH, Hann LE: Surgical and radiologic anatomy of the liver and biliary tract. En: Blumgart LH, Fong Y (editores): *Surgery of the Liver and Biliary Tract*. London, WB Saunders. 2000, pp 3-4.
- ⁹ Netter FH: Liver, biliary tract and pancreas. En: Netter FH (editor): *The Netter Collection of Medical Illustrations*. Teteroboro, ICON Learning Systems. 2001.
- ¹⁰ Gillfillan RS. Anatomic study of the portal vein and its branches. *Arch Surg* 1950;61:449.
- ¹¹ Michels NA. Newer anatomy of the liver and its variant blood supply and collateral circulation. *Am J Surg* 1966;112:337-347.
- ¹² Nakamura S, Tsuzuki T. Surgical anatomy of the hepatic veins and the inferior vena cava. *Surg Gynecol Obstet* 1981;152:43-50.

- ¹³ Boyden EA. The anatomy of the choledochoduodenal junction in man. *Surg Gynecol Obstet* 1957;104:641–652.
- ¹⁴ Gross RE. Congenital abnormalities of the gallbladder: a review of 148 cases with report of a double gallbladder. *Arch Surg* 1936;32:131–162.
- ¹⁵ Trutmann M, Sasse D. The lymphatics of the liver. *Anat Embryol* 1994;190:201–209.
- ¹⁶ Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ. The liver. En: Ross MH, Reith EJ, Romrell LJ (editores): *Histology: A Text and Atlas*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1989, pp 471–478.
- ¹⁷ Saxena R, Zucker SD, Crawford JM. Anatomy and physiology of the liver. En: Zakim D, Boyer TD (editores): *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Philadelphia, WB Saunders, 2003, pp 3–30.
- ¹⁸ McCuskey RS, Reilly FD: Hepatic microvasculature: Dynamic structure and its regulation. *Semin Liver Dis* 1993;13:1–12.
- ¹⁹ Geerts A. History, heterogeneity, developmental biology, and functions of quiescent hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001;21:311–335.
- ²⁰ Felber JP, Golay A: Regulation of nutrient metabolism and energy expenditure. *Metabolism* 1995;44:4–9.
- ²¹ Lauth WW, Greenway CV. Conceptual review of the hepatic vascular bed. *Hepatology* 1987;7:952–963.
- ²² Arias IM, Che M, Gatmaitan Z, et al. The biology of the bile canaliculus, 1993. *Hepatology* 1993;17:318–329.
- ²³ Muller M, Jansen PLM. Mechanisms of bile secretion. En: Zakim D, Boyer TD (editores): *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Philadelphia, WB Saunders, 2003, pp 271–290.
- ²⁴ Zimmermann H, Reichen J. Assessment of liver function in the surgical patient. En: Blumgart LH, Fong Y (editores). *Surgery of the Liver and Biliary Tract*. London, WB Saunders, 2000, pp 35–64.
- ²⁵ Pilkis SJ, Granner DK. Molecular physiology of the regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu Rev Physiol*. 1992;54:885–909.
-

- ²⁶ Zakim D. Metabolism of glucose and fatty acids by the liver. En: Zakim D, Boyer TD (editores). *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Philadelphia, WB Saunders, 2003, pp 49–80.
- ²⁷ Cooper AJL. Amino acid metabolism and synthesis of urea. En: Zakim D, Boyer TD (editores): *Hepatology: A Textbook of Liver Disease*. Philadelphia, WB Saunders, 2003, pp 81–126.
- ²⁸ Stolz A. Liver physiology and metabolic function. En: Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH (editores). *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia, WB Saunders, 1998, pp 1061–1082.
- ²⁹ Fausto N. Lessons from genetically engineered animal models: V. Knocking out genes to study liver regeneration: Present and future. *Am J Physiol* 1999;277:G917–21.
- ³⁰ Davern TJ, Scharschmidt BF. Biochemical liver tests. En: Sleisenger & Fordtran's *Gastrointestinal and Liver Disease*, 7th ed. Feldman M, Tschumy WO, Friedman LS, Sleisenger MH (editores). Philadelphia, WB Saunders, 2002, pp 1061–1082.
- ³¹ Jaeschke H. Molecular mechanism of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G15-26.
- ³² Vollmar B, Glasz J, Leiderer R et al. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant for liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J Pathol* 1994;145:1421-3.
- ³³ Marzi I, Takei Y, Rüker M, et al. Endothelin-1 is involved in hepatic sinusoidal vasoconstriction after ischemia and reperfusion. *Transplant Int* 1994;7:S503-6.
- ³⁴ Jaeschke H, Farhood A, Smith CW. Neutrophils contribute to ischemia/reperfusion injury in rat liver in vivo. *FASEB J* 1990;4:3355-9.
- ³⁵ Yadav SS, Howell DN, Gao W, et al. L-selectin and ICAM-1 mediate reperfusion injury and neutrophil adhesion in the warm ischemic mouse liver. *Am J Physiol* 1998;275:G1341-52.
- ³⁶ Cywes R, Packham MA, Títese L, et al. Role of platelets in hepatic allograft preservation injury in the rat. *Hepatology* 1993;18:635-47.
-

- ³⁷ Vollmar B, Glasz J, Leiderer R, et al. Hepatic microcirculatory perfusion failure is a determinant for liver dysfunction in warm ischemia-reperfusion. *Am J Pathol* 1994;145:1421-3.
- ³⁸ Vollmar B, Richter S, Menger MD. Leukocyte stasis in hepatic sinusoids. *Am J Physiol* 1996;270:G798-803.
- ³⁹ Pretto EA. Reperfusion injury of the liver. *Transplantation Proc* 1991;23:1912-4.
- ⁴⁰ Lemasters JJ, Ji S, Thurman RG. Centrilobular injury following hypoxia in isolated perfused rat liver. *Science* 1981;213:661-3.
- ⁴¹ Colletti LM, Kuknkel SL, Walz A, et al. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996;23:506-14.
- ⁴² Shirasugi N, Wakabayashi G, Shimazu M, et al. Up-regulation of oxygen derived free radicals by interleukin-1 in hepatic/ischemia reperfusion injury. *Transplantation* 1997;64:1398-403.
- ⁴³ Cutrin JC, Perrelli MG, Cavalieri B, et al. Microvascular dysfunction induced by reperfusion injury and protective effect of ischemic preconditioning. *Free Radical Biol Med* 2002;33:1200-8.
- ⁴⁴ Tsukamoto H. Redox regulation of cytokine expresión in Kupffer Cells. *Antioxidants and Redox Signaling* 2002;4:741-8.
- ⁴⁵ Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994;298:249-58.
- ⁴⁶ Ignarro LJ. Physiology and pathophysiology of nitric oxide. *Kidney Internat* 1996;55(Suppl):S2-5.
- ⁴⁷ Clemens MG. Nitric oxide in liver injury. *Hepatology* 1999;30:1-5.
- ⁴⁸ Kawada N, Tran-Thi T-A, Klein H, et al. The contraction of stellate (Ito) cells stimulated with vasoactive substances. Possible involvement of endothelin-1 and nitric oxide in the regulation of the sinusoidal tonus. *Eur J Biochem* 1993;213:815-23.

- ⁴⁹ Kawamura E, Yamanala N, Okamoto E, et al. Response of plasma and tissue endothelin-1 to liver ischemia and its implication in ischemia-reperfusion injury. *Hepatology* 1995;21:1138-43.
- ⁵⁰ Pannen BHJ, Bauer M, Noldge-Schömburg GFE, et al. Regulation of hepatic blood flow during resuscitation from hemorrhagic shock: role of NO and endothelins. *Am J Physiol* 1997;272:H2735-45.
- ⁵¹ Stewart AG, Barrer JE, Hickey MJ. Nitric oxide in ischaemia-reperfusion injury. En: Grace PA, Mathie RT, editores. *Ischemia-reperfusion injury*. Primera edición. Oxford:Blackwell Science, 1999, p 180-95.
- ⁵² Shiraishi M, Hiroyasu S, Nagahama M, et al. Role of exogenous L-arginine in hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 1997;69:429-34.
- ⁵³ Hur GM, Ryu YS, Yun HY, et al. Hepatic ischemia/reperfusion in rats induced iNOS gene transcription by activation of NF- κ B. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;261:917-22.
- ⁵⁴ Fong Y, Moldawet L, Shires GT et al. The biological characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* 1990;170:363-78.
- ⁵⁵ Streiter RM, Kunkel SL, Bone RC. Role of tumor necrosis factor in disease states and inflammation. *Crit Care Med* 1993;21:S447-63.
- ⁵⁶ Thornton AJ, Streiter RM, Lindley I, et al. Cytokine-induced gene expression of a neutrophil chemotactic factor/IL-8 in human hepatocytes. *J Immunol* 1990;144:2609-13.
- ⁵⁷ Pober JS. Cytokine-mediated activation of vascular endothelium: physiology and pathology. *Am J Pathol* 1998;133:426-33.
- ⁵⁸ Lichtman SN, Lemaster JJ. Role of cytokines and cytokine-producing cells in reperfusion injury to the liver. *Sem Liver Dis* 1999;19:171-204.
- ⁵⁹ Shibuya H, Ohkohchi N, Tsukamoto S, et al. Tumor necrosis factor-induced superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemia/reperfusion in rat liver. *Hepatology* 1997;26:113-20.

- ⁶⁰ Shito M, Wakabayashi G, Ueda M, et al. Interleukin 1 receptor blockade reduces tumor necrosis factor production, tissue injury, and mortality after ischemia-reperfusion in the rat. *Transplantation* 1997;63:143-8.
- ⁶¹ Arii S, Monden K, Adachi Y, et al. Pathogenic role of Kupffer cell activation in the reperfusion injury of cold-preserved liver. *Transplantation* 1994;58:1072-7.
- ⁶² Kiuchi T, Oldhafer KJ, Schlitt HJ, et al. Background and prognostic implications of perireperfusion tissue injuries in human liver transplants : a panel histochemical study. *Transplantation* 1998;66:737-47.
- ⁶³ Shiratori Y, Kiriyama H, Fukushi Y, et al. Modulation of ischemia-reperfusion-induced hepatic injury by Kupffer cells. *Dig Dis Sci* 1994;39:1265-72.
- ⁶⁴ Jaeschke H, Farhood A. Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol* 1991;260:G355-62.
- ⁶⁵ Bravo AJ, Navarro H, Ordóñez A, et al. Estudio experimental de lesiones por reperfusión. *Neumosur* 1997;9:13-18.
- ⁶⁶ Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem* 1990;192:245-61.
- ⁶⁷ Sies H. *Oxidative Stress*. San Diego: Academic Press, 1985.
- ⁶⁸ Videla L, Fernandez V. Biochemical aspects of cellular oxidative stress. *Arch Biol Med Exp* 1988;21:85-92.
- ⁶⁹ Vrba J, Modriansky M. Oxidative Burst of Kupffer cells: target for liver injury treatment. *Biomed Papers* 2002;146:15-20.
- ⁷⁰ Oliver JD, Roberts RA. Receptor-mediated hepatocarcinogenesis: role of hepatocyte proliferation and apoptosis. *Pharmacol Toxicol* 2002;91:1-7.
- ⁷¹ Hinsberg VWM. Biologic generation and metabolic effects of oxidized lipoproteins. *Agents Actions* 1987;22:349-50.
- ⁷² McCord JM. Oxygen-derived free radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Federation Proc* 1987;46:2402-6.
- ⁷³ Marabayashi S, Kiyohiko D, Ochi K, et al. Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: Prevention of damage by α -tocopherol administration. *Surgery* 1986;99:184-91.
-

- ⁷⁴ Nordström G, Seeman T, Hasselgren P. Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. *Surgery* 1985;97:679-83.
- ⁷⁵ Kusumoto K, Morimoto T, Minor T, et al. Allopurinol effects in rat liver transplantation on recovery of energy metabolism and free-radical induced damage. *Eur Surg Res* 1995;27:285-91.
- ⁷⁶ Koeppel TA, Lehman TG, Thies JC, et al. Impact of N-acetylcysteine on the hepatic microcirculation after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1996;61:1397-1402.
- ⁷⁷ Mizoe A, Kondo S, Azuma T, et al. Preventive effects of superoxide dismutase derivatives modified with nibisaccharaides on reperfusion injury in rat liver transplantation. *J Surg Res* 1997;73:160-5.
- ⁷⁸ Younes M, Strubelt O. The involvement of reactive oxygen species in hypoxic injury to rat liver. *Res Comm Chem Pathol Pharmacol* 1988;59:369-81.
- ⁷⁹ Marabuyashi S, Dohi K, Yamada K, et al. Changes in the levels of endogenous coenzyme Q homologs, alpha-tocopherol, and glutathione in rat liver after hepatic ischemia and reperfusion, and the effect of pretreatment with coenzyme Q10. *Biochem Biophys Acta* 1984;797:1-9.
- ⁸⁰ Boviers A. La evolución del concepto radicales libres en biología y medicina. *Ars Pharm* 2005;46:85-95.
- ⁸¹ Gopalan PK, Smith CW, Lu H, et al. Neutrophil CD 18-dependent arrest on intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) in shear flow can be activated through L-selectin. *J Immunol* 1997;158:367-75.
- ⁸² Rothelin R, Dustin ML, Marlin SD, et al. A human intercellular adhesion molecule (ICAM-1) distinct from LFA-1. *J Immunol* 1986 ;137 :1270-4.
- ⁸³ Farhood A, McGuire GM, Manning AM, et al. Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM.1) expression and its role in neutrophil-induced ischaemia reperfusion injury in rat liver. *J Leukoc Biol* 1995;57:368-74.
- ⁸⁴ Scaozec J, Durand F, Degott C, et al. Expression of cytokine-dependent adhesion molecules in postreperfusion biopsy specimens of liver allografts. *Gastroenterology* 1994;107:1094-102.
-

- ⁸⁵ Nakano H, Kuzume M, Namatame K, et al. Efficacy of intraportal injection of anti-ICAM-1 monoclonal antibody against liver cell injury following warm ischemia in the rat. *Am J Surg* 1995;170:64-6.
- ⁸⁶ Vollmar B, Glasz J, Menger MD, et al. Leukocytes contribute to hepatic ischemia-reperfusion injury via intercellular adhesion molecule-1-mediated venular adherence. *Surgery* 1995;117:195-200.
- ⁸⁷ Chavez-Cartaya R, De Sola G, Wright L, et al. Regulation of the complement cascade by soluble complement receptor type 1. Protective effect on experimental liver ischemia and reperfusion. *Transplantation* 1995;59:1047-52.
- ⁸⁸ Collard CD, Lekowski R, Jordan JE, et al. Complement activation following oxidative stress. *Mol Immunol* 1999 ;36 :941-8.
- ⁸⁹ Jaeschke H, Farhood A. Complement activates Kupffer cells and neutrophils during reperfusion after hepatic ischemia. *Am J Physiol* 1993;264:G801-9.
- ⁹⁰ Nauta RJ, Tsomoyiannis E, Uribe M, et al. The role of calcium ions and calcium channel entry blockers in experimental ischemia-reperfusion-induced liver injury. *Ann Surg* 1991;213:137-42.
- ⁹¹ Sindram D, Porte RJ, Hoffman MR, et al. Platelets induce sinusoidal endothelial cell apoptosis upon reperfusion of the cold ischemic rat liver. *Gastroenterology* 2000;118:183-191.
- ⁹² Schoenwaelder S, Yuan Y, Cooray P, et al. Calpain cleavage of focal adhesion proteins regulates the cytoskeletal attachment of integrin alphaIIb beta3 (platelet glycoprotein IIb/IIIa) and the cellular retraction of fibrin clots. *J Biol Chem* 1997;272:1694-1702.
- ⁹³ Gow A, Thom S, Ischiropoulos H. Nitric oxide and peroxynitrite-mediated pulmonary cell death. *Am J Physiol* 1998;274:L112-118.
- ⁹⁴ Selzner, Nazia, Rudiger Hannes, Graf R, et al. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 2003;125:917-36.
- ⁹⁵ Kitakaze M, Hori M, Sato H, et al. Endogenous adenosine inhibits platelet aggregation during myocardial ischemia in dogs. *Circ Res* 1991;69:1402-8.

- ⁹⁶ Ward PA, Cunningham TW, McCulloch KK, et al. Regulatory effects of adenosine and adenine nucleotides on oxygen radical responses of neutrophils. *Lab Invest* 1988;58:438-47.
- ⁹⁷ McKie LD, Bass BL, Dunkin BJ, et al. Nitric oxide mediates the blood flow response to intravenous adenosine in the rabbit. *Circ Shock* 1994;43:103-6.
- ⁹⁸ Van Belle H, Goznes F, Wynants J. Formation and release of purine catabolites during hypoperfusion, anoxia and ischemia. *Am J Physiol* 1987;252:H886-93.
- ⁹⁹ Van Belle H, Wynants J, Xhonneux R, et al. Changes in creatine phosphate, inorganic phosphate and the purine pattern in dog hearts with time of coronary artery occlusion and effect thereof of mioflazine, a nucleoside transport inhibitor. *Cardiovasc Res* 1986;20:658-64.
- ¹⁰⁰ Videla LA, Fernández V, Carrión Y, et al. Biochemical mechanism in hepatotoxicity: oxidative stress induced by xenobiotics and hormonal changes. *J Braz Assoc Adv Sci* 1995;47:385-94.
- ¹⁰¹ Hur GM, Ryu YS, Yun HY, et al. Hepatic ischemia/reperfusion in rats induces iNOS gene transcription by activation on NF- κ B. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;261:917-22.
- ¹⁰² Ghosh S, May MJ, COP EB. NF- κ B and Rel proteins: evolutionary conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998;16:225-60.
- ¹⁰³ Bauerle PA, Baltimore D. NF- κ B: ten years after. *Cell* 1996;87:13-20.
- ¹⁰⁴ Li Y, Zhang W, Mantell LL, et al. Nuclear factor κ B is activated by hyperoxia but does not protect from cell death. *J Biol Chem* 1997;272:20646-9.
- ¹⁰⁵ Takahashi Y, Ganster RW, Gambotto A, et al. Role of NF- κ B on liver cold ischemia-reperfusion injury. *Am J Gastrointest Liver Physiol* 2002;283:G1175-84.
- ¹⁰⁶ Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biol Medi* 2000;28:463-99.
- ¹⁰⁷ Rudiger HA, Clavien PA. Tumor necrosis factor-alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver. *Gastroenterology* 2002;122:202-10.
-

- ¹⁰⁸ Selzner N, Rudiger H, Graf R, et al. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology* 2003;125:917-936.
- ¹⁰⁹ Natori S, Selzner M, Valentino KL, et al. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells occurs during liver preservation injury by a caspase dependent mechanism. *Transplantation* 1999;68:89-96.
- ¹¹⁰ Cursio R, Guggenheim J, Ricci JE, et al. A caspase inhibitor fully protects rats against lethal normothermic liver ischemia by inhibition of liver apoptosis. *FASEB J* 1999;13:253-261.
- ¹¹¹ Bilbao G, Contreras J; Eckhoff D, et al. Reduction of ischemia-reperfusion injury of the liver by in vivo adenovirus-mediated gene transfer of the antiapoptotic Bcl-2 gene. *Ann Surg* 1999;230:185-92.
- ¹¹² Gujral J, Bucci T, Farhood A, et al. Mechanism of cell death during warm ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? *Hepatology* 2001;33:397-405.
- ¹¹³ Lemasters JJ. Necrapoptosis and the mitochondrial permeability transition: shared pathways to necrosis and anapoptosis. *Am J Physiol* 1999;276:G1-6.
- ¹¹⁴ Cursio R, Guggenheim J, Panaia Ferrari P, et al. Improvement of normothermic rat liver ischemia/reperfusion by muramyl dpeptide. *J Surg Res* 1998;80:330-44.
- ¹¹⁵ Selzner M, Rudiger HA, Sindram D, et al. Mechanisms of ischemic injury are different in the steatotic and normal rat liver. *Hepatology* 2000;32:1280-8.
- ¹¹⁶ Colletti LM, Green M. Lung and liver injury following ischemia/reperfusion in the rat is increased by exogenous lipopolysaccharide which also increases hepatic TNF production in vivo and in vitro. *Shock* 2001;16:312-9.
- ¹¹⁷ Yamamoto S, Nitta N, Ozaki N, et al. Deleterious effects of splanchnic congestion on hepatic energy metabolism following repeated portal triad cross-clamping in dogs. *Circ Shock* 1988;26:193-201.
- ¹¹⁸ Isozaki H, Adam R, Gigou M, et al. Experimental study of the protective effect of intermittent hepatic pedicle clamping in the rat. *Br J Surg* 1992;79:310-33.
- ¹¹⁹ Loureiro C, Portugal V, García-Alonso I, et al. Modelo para el estudio de la isquemia hepática intermitente en la rata. *Isquemia hepática intermitente*. *Span J Surg Res* 2003;6:107-113.