



**COLESTASIS MICROQUIRÚRGICA: UN MODELO DE INFLAMACIÓN
ESPLÁCNICA
MICROSURGICAL CHOLESTASIS: A MODEL OF SPLANCHNIC
INFLAMMATION**

García Picazo, Alberto.

Facultad de Medicina, UCM. Madrid, España. Correspondencia del autor: albega11@ucm.es

RESUMEN

Introducción: La ligadura de los conductos biliares comunes en la rata es un modelo experimental fiable de la cirrosis asociada a hipertensión portal. Esta condición induce una inflamación esplácnica, en la cual podrían tomar parte las células cebadas o mastocitos.

Material y métodos: Para verificar esta hipótesis, se midió la densidad de células cebadas conectivas (RMCP-I) (RMCP: rat mast cell protease), y mucosas (RMCP-II) en los órganos espláncnicos en ratas pseudo-operadas y en ratas con colestasis extrahepática microquirúrgica.

Resultados: Se observó un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en la densidad de ambos tipos de celulares en el hígado e íleon de ratas colestásicas, respecto a las pseudo-operadas.

Conclusiones: Estos resultados delatan el papel principal que podrían desempeñar las células cebadas en los órganos viscerales, siendo moduladores de la respuesta inflamatoria esplácnica, la remodelación fibrótica y la angiogénesis, que acontece en la cirrosis.

Palabras clave: colestasis; células cebadas; hipertensión portal; inflamación.

ABSTRACT

Introduction: The ligation of the common bile duct in rats is a reliable experimental model of the cirrhosis associated with portal hypertension. This condition induces a splanchnic

inflammation, in which mast cells might be involved.

Methods: In order to verify this hypothesis, were measured the density of connective tissue mast cells (RMCP-I) (RMCP: rat mast cell protease) and mucosal mast cells (RMCP-II) in the splanchnic organs of pseudo-operated rats and in rats with microsurgical extrahepatic cholestasis.

Results: A statistically significant increase ($p < 0.05$) in the density of both types cells in the liver and ileum of cholestatic rats with reference to the pseudo-operated rats was observed.

Conclusions: These results suggest the possible key role that mast cells could play in the visceral organs. Being splanchnic modulators of the inflammatory response, angiogenesis and fibrotic remodelling, which occur in cirrhosis.

Keywords: cholestasis; mast cells; portal hypertension; inflammation.

INTRODUCCIÓN

La colestasis se define como la reducción biliar hepática. El principal cambio morfológico que la acompaña, es la fibrosis hepática, que promueve la capilarización sinusoidal, la hipertensión portal, la cirrosis hepática y el hepatoma. La causa de dicha fibrosis radica en la transformación de las células estrelladas hepáticas en miofibroblastos, los cuales producen colágeno, esencialmente. Esta respuesta fibrogénica es secundaria a la inflamación que causa la obstrucción biliar, en la cual estarían implicados los mastocitos o células cebadas.

Un modelo experimental adecuado para estudiar el papel que desempeñan los mastocitos en la inflamación asociada a la enfermedad hepática crónica y la hipertensión portal podría ser la colestasis extrahepática obstructiva en la rata, García-Domínguez *et al.* (2010). En roedores, los mastocitos se clasifican en mastocitos conectivos (RMCP-I) y mucosos (RMCP-II) (RMCP: rat mast cell protease). Existen varias técnicas quirúrgicas para realizar la colestasis, la de elección es la resección microquirúrgica de las vías biliares, que evita la formación de pseudoquistes y la sepsis provocada por los abscesos durante el periodo postoperatorio.

Por todo ello, el propósito de esta investigación es determinar la densidad de los mastocitos en los órganos esplácnicos de las ratas con colestasis extrahepática microquirúrgica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 35 ratas macho de la cepa Wistar, las cuales se dividieron en dos grupos: ratas pseudoperadas (SPO) (n=15) y ratas con colestasis microquirúrgica extrahepática (CM) (n=20).

Todos los animales se sacrificaron a las 8-9 semanas de la intervención.

Las ratas fueron anestesiadas con ketamina (100 mg/kg) y xilacina (12 mg/kg) i.m. En las ratas del grupo SPO, el conducto biliar y sus ramas lobares fueron resecadas sin resección, mientras que en las ratas del grupo CM, se seccionó las vías biliares extrahepáticas (Figura 1A, B, C) mediante microcirugía. Se administró buprenorfina (0,05 mg/Kg/8h sc) para la analgesia del primer día del postoperatorio, ceftazidima como profilaxis antibiótica y vitamina K1 como profilaxis anti-hemorrágica durante todo el postoperatorio.

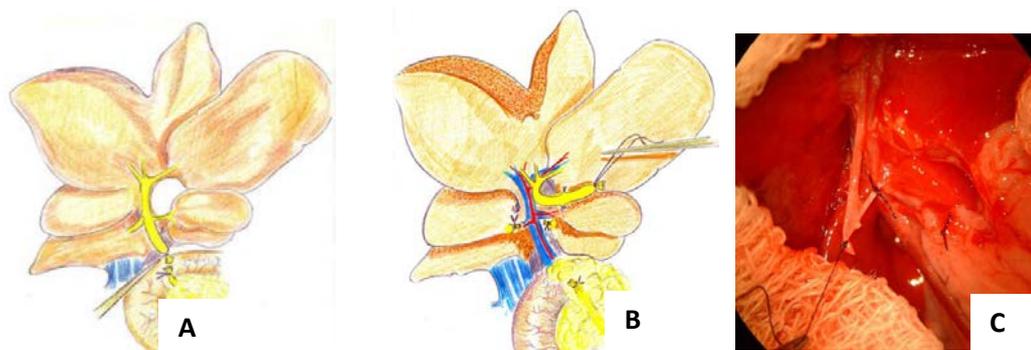


Figura 1. A: Ligadura y sección del colédoco. B: Disección de la vía biliar principal. C: Tracción del colédoco y ligadura de los conductos biliares.

Durante el sacrificio, se cuantificó la densidad esplácnica de los mastocitos mucosos (RMCP-II) mediante la inmunodetección de RMCP-II, utilizando un anticuerpo monoclonal específico de rata (1:500; Moredun Animal Health, Edinburgh, UK) y conectivos (RMCP-I) mediante la tinción con azul de toluidina de muestras de hígado, íleon, ganglio y bazo de rata. Se realizó el análisis estadístico de los resultados utilizando el programa informático SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versión 14.00, Chicago, IL).

Los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar y se consideraron significativos si $p < 0,05$.

RESULTADOS

Las subpoblaciones mucosas (RMCP-II) y conectivas (RMCP-I) de células cebadas fueron determinadas en los órganos espláncnicos (hígado, bazo, ganglios linfáticos mesentéricos e íleon).

La densidad de células cebadas mucosas y conectivas en el hígado e íleon de ratas con colestasis

microquirúrgica mostró un incremento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) respecto a la correspondiente en los animales pseudooperados (Figura 2). En el resto de órganos esplácnicos se evidenció un aumento en la densidad de mastocitos, sin observarse diferencias estadísticamente significativas.

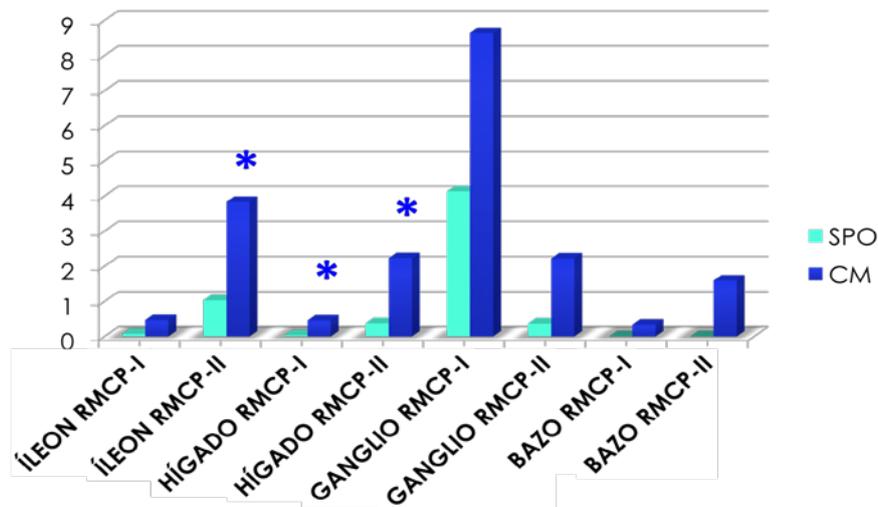


Figura 2. Proporción de mastocitos en los órganos esplácnicos. * $p < 0,05$: ES respecto de SPO; Células cebadas mucosas (RMCP-II), Células cebadas conectivas (RMCP-I), SPO: ratas pseudooperadas; CM: Colestasis microquirúrgica.

DISCUSIÓN

En el caso de las ratas colestásicas, en el que la enfermedad hepática crónica, la fibrosis y la proliferación de las vías biliares complican la evolución de la hipertensión portal, los mastocitos podrían participar como moduladores de la respuesta inflamatoria, Moon *et al.* (2014). Además de promover la respuesta inmune innata, los mastocitos son centrales en la activación y regulación de la inmunidad adaptativa, Sipeki *et al.* (2014), ya que podrían liberar el factor de necrosis tumoral preformada (TNF) alfa, permitiendo así la comunicación entre la inflamación hepática y la de los tejidos linfoides secundarios mesentéricos y esplénicos, Kurashima *et al.* (2014).

Los mastocitos mucosos inducen la respuesta inflamatoria intestinal por mediadores como las citoquinas (IL-1B e IL-6) y las metaloproteinasas, que favorecen la interrupción de la barrera epitelial intestinal, Mehta *et al.* (2014). Por el contrario, los conectivos expresan proteasas que degradan proteínas del grupo B y citoquinas inflamatorias (IL-6, IL-3), limitando así la

inflamación intestinal. Además ambos tipos celulares intervienen en la hiperactividad angiogénica, que acontece en la hipertensión portal. En el hígado los mastocitos mucosos, en ratas colestásicas podrían liberar mediadores proinflamatorios (histamina), implicados en la disfunción sinusoidal y hepatocitaria, facilitando la permeabilidad vascular, provocando así la remodelación por fibrosis.

CONCLUSIONES

El papel de los mastocitos en la fibrosis hepática y la inflamación esplácnica se opone al que desempeñan favoreciendo la inducción de la tolerancia inmune y la regeneración hepática.

BIBLIOGRAFÍA

- García-Dominguez, J; Aller, M.A; García, C; de Vicente, F; Corcuera, M.T; Gómez-Aguado, F. 2010. Splanchnic Th (2) and Th (1) cytokine redistribution in microsurgical cholestatic rats. *J Surg Res.*162: 203-212.
- Kurashima, Y; Kiyono, H. 2014. New era for mucosal mast cells: their roles in inflammation, allergic immune responses and adjuvant development. *Exp Mol Med.* 46: e83.
- Mehta, G; Gustot, T; Mookerjee, R.P; Garcia-Pagan, J.C; Fallon, M.B; Shah, V.H; Moreau, R; Jalan, R. 2014. Inflammation and portal hypertension – the undiscovered country. *J Hepatol.* 61: 155-163.
- Moon, T.C; Befus, A.D; Kulka, M. 2014. Mast cell mediators: their differential release and the secretory pathways involved. *Front in Immunol.* 5: 569.
- Sipeki, N; Antal-Szalmas, P; Lakatos, P.L; Papp, M. 2014. Immune dysfunction in cirrhosis. *World J Gastroenterol.* 20: 2564-2577.