

## Revisión

# Modelos experimentales sobre shock hemorrágico

J. L. Mauriz\*, J. Martín Renedo\*, J. P. Barrio\*, J. M. Culebras\*\* y P. González\*

\*Instituto de Biomedicina. Universidad de León. \*\*Servicio de Cirugía. Complejo Asistencial de León. SACYL. León. España.

## Resumen

En este trabajo se describe la fisiopatología y potenciales tratamientos del shock hemorrágico, situación que se produce por una rápida y significativa pérdida de volumen intravascular.

El shock hemorrágico se inicia con una inestabilidad hemodinámica, descenso en el aporte y perfusión de oxígeno a los tejidos, lo que induce hipoxia celular. Una de las complicaciones más usuales es el daño multiorgánico, debido a un proceso sistémico inflamatorio que afecta a los órganos vitales y que puede conducir a la muerte del individuo. También, se ha descrito un incremento en la activación de los macrófagos por translocación bacteriana y por la propia isquemia/reperfusión. Además, la activación de las células de Kupffer favorece la liberación de citoquinas, radicales libres y óxido nítrico que pueden llevar a un empeoramiento del cuadro. En los últimos años se han llevado a cabo investigaciones para profundizar en el conocimiento de la fisiopatología y potenciales tratamientos del shock hemorrágico. Diferentes estudios han mostrado efectos positivos por la administración de antioxidantes, aminoácidos o lípidos en este tipo de shock.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:190-8)

Palabras clave: *Aminoácido. Antioxidante. Shock hemorrágico. Estrés oxidativo.*

**Correspondencia:** José Luis Mauriz, PhD  
Instituto de Biomedicina  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León  
E-mail: jl.mauriz@unileon.es

Recibido: 30-X-2006.  
Aceptado: 21-I-2007.

## EXPERIMENTAL MODELS ON HEMORRHAGIC SHOCK

### Abstract

This review addresses the pathophysiology and treatment of hemorrhagic shock, a condition produced by rapid and significant loss of intravascular volume.

Hemorrhagic shock may lead sequentially to hemodynamic instability, decreases in oxygen delivery, decreased tissue perfusion and cellular hypoxia. Multiple organ failure, a systemic inflammatory process that leads to dysfunction of different vital organs, is a frequent complication after hemorrhagic shock and accounts for a high incidence of mortality. The pathogenesis of organ injury secondary to hypovolemic insults is still not completely understood, but both experimental studies and clinical observations indicate that macrophages are activated by translocated endotoxin-bacteria and ischemia/reperfusion. Activated Kupffer cells release pathologically active substances such as inflammatory cytokines, reactive oxygen species, and nitric oxide, all of which may participate in the mechanisms of hemorrhagic shock. Moreover, increased free radical production during hemorrhagic shock and resuscitation gives place to an increase in oxidative stress that would contribute to the organ damage. In the last few years, a number of experiments have been performed in an attempt to understand the pathophysiology and treatment of hemorrhagic shock. Different studies have shown positive effects on hemorrhagic shock treatment by antioxidant, amino acid, and lipid administration.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:190-8)

Key words: *Amino acid. Antioxidant. Hemorrhagic Shock. Oxidative stress.*

## Introducción

El daño multiorgánico es un proceso inflamatorio sistémico que origina la disfunción de diferentes órganos vitales y es una frecuente complicación después de shock hemorrágico que se presenta con alta incidencia y mortalidad<sup>1</sup>. Se ha descrito que los pulmones constituyen una de las más importantes dianas del da-

ño orgánico durante el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) y el consiguiente síndrome de disfunción multiorgánica (MODS), sin embargo no ha sido hasta mediados de los años 80 y comienzos de los 90 cuando ha quedado puesto de manifiesto el papel del hígado tras shock hemorrágico.

La disfunción hepática juega un papel central y puede persistir en aquellos casos en los que ha sido posible revertir el shock<sup>2</sup>. Aunque durante las tres últimas décadas se han llevado a cabo numerosos estudios sobre los mecanismos y consecuencias del daño hepático tanto en modelos humanos como animales, éstos no se conocen aún de una manera fiable y completa y la terapéutica utilizada debería ser mejorada.

El daño originado por isquemia/reperfusión parece jugar un papel central en la disfunción y fallo hepático después de shock hemorrágico y resucitación<sup>3</sup>. Tanto los estudios experimentales como las observaciones clínicas indican que la activación de los macrófagos conduce a la liberación de sustancias patológicas tales como citoquinas inflamatorias, especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico que participan en el mecanismo de shock hemorrágico. El objetivo principal de este artículo es ofrecer una revisión de diferentes modelos utilizados para el estudio del shock hemorrágico y la utilidad clínica, especialmente en el campo de la nutrición.

### Fisiopatología del shock hemorrágico

El shock es un síndrome clínico que se produce como consecuencia de una perfusión inadecuada de los tejidos. Con independencia de la causa, el desequilibrio entre el aporte y las necesidades de oxígeno y sustratos inducido por la hipoperfusión provoca una disfunción celular. La lesión celular debida al suministro inadecuado de oxígeno y sustratos desencadena también la producción y liberación de mediadores de la inflamación.

El shock puede ser producido por un descenso en el gasto cardíaco (cardiogénico), por sepsis (distributivo) o por descensos en el volumen intravascular (hipovolémico o hemorrágico). La causa última puede estar relacionada con una deshidratación, con pérdida severa de fluidos o por una rápida y sustancial pérdida de sangre<sup>4</sup>. En la tabla I aparecen recogidas las causas más frecuentes de shock hemorrágico en la clínica.

El concepto de shock hemorrágico se puede definir como una extravasación del contenido del sistema circulatorio, produciendo una disminución en la presión sanguínea, con la consiguiente disminución de la sangre, y por tanto del oxígeno, que llega a los distintos órganos y tejidos, pudiendo conducir al fallecimiento del individuo si no se controla, ya que se desencadenan una serie de procesos que llevan finalmente al fallo multiorgánico.

Según la clasificación del American College of Surgeons las pérdidas de sangre se pueden dividir en cuatro categorías<sup>5</sup>:

**Tabla I**  
*Principales causas de shock hemorrágico*

<i>Origen</i>	<i>Ejemplo</i>
Trauma	Ruptura de grandes vasos Heridas penetrantes en abdomen y tórax Laceraciones
Hemorragia gastrointestinal	Varices esofágicas Úlcera gástrica Gastritis Úlcera duodenal Cáncer de colon
Pulmonar	Embolismo pulmonar Cáncer de pulmón Tuberculosis Aspergilosis Síndrome de Goodpasture
Obstétrico/ginecológico	Placenta previa Embarazo ectópico Desprendimiento prematuro de la placenta (abruptio placentae)
Otros	Ruptura de aneurismas, coagulopatías, terapia antitrombótica, etc.

– Clase I: Pérdida de un 15% o menos del volumen sanguíneo, pudiéndose llegar a apreciar taquicardia en reposo que aparece primero en posición de pie. Esta “taquicardia ortostática” se define como un aumento de la frecuencia cardíaca de al menos 20 latidos/minuto. No se observan síntomas en el sistema nervioso central.

– Clase II: Pérdida de 15-30% del volumen sanguíneo. El principal hallazgo clínico en esta etapa es la hipotensión ortostática de al menos 15 mmHg. Existe además un incremento importante de la taquicardia.

– Clase III: Pérdida del 30-40% del volumen sanguíneo. En esta etapa hay hipotensión, así como oliguria (menos de 400 ml/24 horas) y taquicardia. El individuo comienza a sentirse confuso.

– Clase IV: Pérdida de más del 40% del volumen sanguíneo. Esta es una condición grave, que puede conducir a hipotensión profunda y colapso cardiovascular. El individuo entra en una profunda letargia.

Cuando el shock ha progresado hasta un determinado estadio, la transfusión, o cualquier otro tipo de terapéutica, ya no podrá salvar la vida del individuo. Nos hallamos en la etapa irreversible del shock. El mecanismo específico involucrado en la fisiopatología de la hemorragia aún no está completamente definido. El shock hemorrágico produce un estrés oxidativo en

las células e induce una respuesta inflamatoria generalizada con aumento en la expresión de mediadores proinflamatorios y citoquinas<sup>6</sup>.

### **Alteraciones hepáticas producidas por shock hemorrágico**

En el shock hemorrágico podemos distinguir dos fases: una primera fase de isquemia, donde el daño se produce por hipoxia tisular, y una segunda fase en la que se produce una alteración en los tejidos debido, al menos en parte, a la producción de especies reactivas del oxígeno y de nitrógeno.

En el periodo de isquemia, cuando se produce una reducción suficiente del volumen sanguíneo las células no obtienen la cantidad adecuada de oxígeno de la sangre, alterándose la cadena de transporte de electrones mitocondrial y produciendo la alteración del balance redox de las enzimas mitocondriales<sup>7</sup>. Esta secuencia de sucesos llega finalmente a la parada de la fosforilación oxidativa, conduciendo a la disminución de la producción de ATP<sup>8</sup>. Tal reducción hace que no pueda funcionar la bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPasa, alterándose el balance iónico celular. Con la afuncionalidad de la bomba de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> se produce una entrada descontrolada de Na<sup>+</sup> en la célula, con el consiguiente ingreso masivo de agua en la misma<sup>9</sup>, produciendo, por tanto, un edema celular. Junto con este proceso, también falla la bomba Ca<sup>2+</sup> ATPasa del retículo endoplásmico, aumentando la concentración de Ca<sup>2+</sup> intracitoplasmático, lo que conduce a la activación de fosfolipasas de membrana (fosfolipasa A2, entre otras) que van a destruir la membrana celular<sup>10</sup>.

La disminución del oxígeno que llega a los tejidos también es capaz de inducir la producción celular del factor inducible por hipoxia (HIF-1). Muchos genes poseen sitios de unión para HIF-1, como la eritropoyetina (EPO), el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), la hemo oxigenasa (HO-1) y la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) entre otros, junto con enzimas de la vía glucolítica<sup>11</sup>. Así, las células intentan responder a la hipoxia, con la creación de un mayor lecho vascular, una mayor cantidad de eritrocitos, la dilatación de los vasos sanguíneos y un mayor metabolismo, aunque sea anaeróbico, para conseguir ATP.

En la posterior fase de reperfusión, tras la isquemia producida por el shock hipovolémico, se van a producir toda una serie de procesos que van a conducir al aumento del estrés oxidativo y nitrosativo tisular pudiendo llegar a un fallo multiorgánico. Por tanto, la fase de reperfusión es más dañina para los tejidos que la previa fase de isquemia<sup>7</sup>. Durante esta fase, y debido a la activación del complemento, se movilizan y reclutan los linfocitos T CD4+. Estos dos procesos permiten la activación del sistema monocito macrófago<sup>12,13</sup>. La activación de los macrófagos conduce a la formación de ROS en los vasos y también a la producción de factor de necrosis tumo-

ral alfa (TNF $\alpha$ ) e interleucina 1 (IL-1)<sup>13,14</sup>. En concreto en el hígado, la activación de las células de Kupffer, los macrófagos residentes del hígado, conduce a la producción de prostaglandinas, factor activador de plaquetas (PAF), IL-1, TNF $\alpha$ , IL-6, interferón gamma (IFN $\gamma$ ) y ROS. Esta producción de sustancias actúa sobre otras células de Kupffer, células endoteliales y polimorfonucleares (PMN)<sup>15,16</sup>. La liberación de TNF $\alpha$  conduce a un incremento en la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y la síntesis de quimioquinas dirigidas a PMN, produciendo su reclutamiento<sup>17,18</sup>. Los PMN, junto con las células endoteliales, tras su activación, expresan moléculas de adhesión celular para llegar a una adhesión de los PMN a las células endoteliales, seguida de una extravasación de los mismos<sup>19</sup>. Tras su extravasación elaboran y secretan elastasas, serin-proteasas, metaloproteinasas y ROS<sup>12</sup>, contribuyendo aun más al daño tisular.

Los principales ROS son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno<sup>20</sup>, siendo sus fuentes la enzima xantina oxidasa citosólica, las células de Kupffer y los PMN adherentes<sup>17</sup>. La formación y liberación de ROS constituye un importante mecanismo de daño tisular, durante la isquemia-reperfusion, aunque se relaciona con la transducción de señales durante el mecanismo inflamatorio<sup>16,17</sup>.

En cuanto al óxido nítrico (NO) se genera en los tejidos por medio de tres enzimas denominadas de forma colectiva NOS. La forma inducible de esta enzima se activa en shock hipovolémico y se mantiene durante la resucitación, contribuyendo a la secreción de citoquinas<sup>1</sup>. Durante esta fase se va a dar una situación de inflamación generalizada, conduciendo finalmente al daño tisular y al fallo orgánico. Se ha descrito la activación de un receptor denominado TLR-4 (del inglés *toll-like receptor 4*) que parece relacionado con la producción de TNF $\alpha$  durante la fase de inflamación, estudios realizados inhibiendo dicha activación o con animales mutantes TLR4<sup>-/-</sup> muestran una reducción en la síntesis de TNF $\alpha$  y en el daño orgánico tanto a nivel hepático como cardíaco<sup>21</sup>.

### **Función del calcio en el shock hemorrágico**

Rose y cols. demostraron que el shock hemorrágico y los procesos de resucitación alteran el sistema de señales del Ca<sup>2+</sup> produciendo una sobrecarga intracelular de este ión como resultado del desequilibrio del movimiento del Ca<sup>2+</sup> transmembrana, aumentando su influjo y reduciendo su expulsión<sup>22</sup>.

El daño producido por los fenómenos de isquemia/reperfusion en varios órganos modifica la homeostasis intracelular del Ca<sup>2+</sup> y altera las vías metabólicas Ca<sup>2+</sup> dependientes<sup>23</sup>. Además, la activación mediada por el Ca<sup>2+</sup> de enzimas potencialmente peligrosas como fosfolipasas, proteasas y endonucleasas produce una rotura de la integridad celular que conduce a la muerte celular<sup>24</sup>.

Una amplia variedad de mediadores endocrinos (catecolaminas, vasopresina, glucagón, angiotensina II) e inmunes (TNF $\alpha$ , PAF, factores de crecimiento, eicosanoides), son liberados durante el shock, e incrementan potencialmente la entrada de Ca<sup>2+</sup> intracelular y su movilización desde el retículo endoplasmático. Los leucocitos polimorfonucleares, las células de Kupffer y las células endoteliales son una fuente potencial de ROS y de varios mediadores inflamatorios (TNF $\alpha$ , PAF, interleuquina-1) involucrados en el daño hepático producido por los fenómenos de isquemia/reperfusión(I/R)<sup>25</sup>. La entrada de calcio al hepatocito durante los períodos de isquemia/reperfusión puede ocurrir no sólo a través de un receptor que activa los canales de Ca<sup>2+</sup>, sino también a través de un aumento pasivo de entrada de Ca<sup>2+</sup> a través de la membrana<sup>26</sup>

### Modelos animales de shock hemorrágico

Son muchos los animales de laboratorio que se han utilizado para estudiar los mecanismos implicados en el desarrollo del shock hemorrágico. Entre ellos podemos citar la rata, ratón, conejo, cobaya, cerdo, perro o primate. Existen dos tipos de procedimiento básicos de inducción. El primer método más antiguo, método de volumen constante, consiste en la retirada de un volumen determinado de sangre del animal, dicho volumen es calculado generalmente en función del peso o de la superficie corporal<sup>27-29</sup>. El principal inconveniente de este método, es que frecuentemente hay que cesar la hemorragia antes de extraer el volumen de sangre deseado<sup>30</sup>. El segundo, y actualmente más utilizado método de shock hemorrágico, es aquel que podemos denominar de presión constante, donde se controla la presión sanguínea a través de una cánula insertada en la arteria femoral derecha<sup>31</sup> o en la cola del animal<sup>32,33</sup> mediante un analizador de presión. En ambos métodos se procede a la canulación de dos vasos, generalmente la arteria carótida y la vena yugular izquierdas, para poder realizar el control de la velocidad, de volumen de sangrado y de la reperfusión, pudiendo a través de este método, mantener una presión de hipotensión constante<sup>30</sup>.

Rothe en 1970, en un estudio realizado con perros sometidos a diversos grados de hemorragia, en los que se siguió el curso de la presión arterial en el shock hemorrágico, observó que los animales que no bajaron de 45 mmHg acabaron por recuperarse más pronto o más tarde, dependiendo del descenso de la presión. Sin embargo, cuando la presión se mantuvo por debajo de 45 mmHg todos murieron<sup>34</sup>. Con ello se demuestra que el sistema circulatorio puede recuperarse mientras el grado de hemorragia no sea mayor de cierta cifra crítica, sin embargo, una vez cruzado este valor crítico, una variación mínima de presión puede establecer la diferencia entre la vida y la muerte. La hemorragia más allá de cierto valor crítico hace que el shock se vuelva progresivo. En definitiva, el propio shock origina un shock más intenso.

### Animales transgénicos en el estudio del shock hemorrágico

En muchas patologías se utilizan animales modificados genéticamente, también llamados animales transgénicos, para comprobar los efectos que un gen determinado, incorporado o eliminado, del genoma produce en la citada patología. La enzima superóxido dismutasa (SOD) es la enzima encargada de eliminar o neutralizar el anión superóxido, pero no puede penetrar en la célula a través de la membrana cuando se realiza una administración exógena lo que conlleva que sea prácticamente imposible inducir modificaciones en la actividad de la SOD.

En 1987 Epstein y cols.<sup>35</sup> utilizaron un ratón transgénico que sobre-expresaba Cu,Zn-SOD en el citoplasma. Descendientes de estos ratones con 1,8 veces de incremento de la actividad SOD fueron utilizados posteriormente y sometidos a un proceso de isquemia/reperfusión (durante 15 minutos se les induce una isquemia parcial hepática del 70% seguida por un período de reperfusión de 45 minutos). Posteriormente se aislaron los hepatocitos de ambos grupos de animales y se sometieron a un medio anaerobio (90 minutos) y un período de oxigenación (2 horas). Se observó un incremento de la concentración plasmática de ALT y de la concentración hepática de hidropéroxido de fosfatidilcolina (PCOOH) que es un parámetro indicador de alteración celular hepática, en los ratones normales sin embargo se suprimían estos incrementos en los animales transgénicos. Estos resultados sugieren que la producción intracelular del anión superóxido está implicada en el mecanismo patológico hepático producido por isquemia/reperfusión. Y la posibilidad de eliminar intracelularmente este ión puede contribuir a la prevención del daño originado por la reperfusión.

Varios estudios han indicado que el óxido nítrico (NO) derivado de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) es una importante molécula de señalización en el daño por isquemia/reperfusión. Duranski y cols.<sup>36</sup> en 2006 utilizaron ratones transgénicos con sobreexpresión de eNOS (ENOS-TG) sometidos durante 45 minutos a isquemia hepática, seguidos de 5 horas de reperfusión y observaron que estos animales transgénicos estaban protegidos frente al daño hepático originado por isquemia/reperfusión sugiriendo que la protección en los animales eNOS-TG puede estar mediada por la vía guanilato ciclasa e independiente de la vía de hemoxiganasa.

La apoptosis es un mecanismo central originado durante la reperfusión en el hígado. Se han realizado experimentos de isquemia /reperfusión con animales transgénicos presentado sobreexpresión de Bcl-2, indicando que estos animales son resistentes al daño al inhibirse la apoptosis<sup>37</sup>.

### Modelos celulares de shock hemorrágico

Se han utilizado varios tipos de células como células de Kupffer, endoteliales o hepatocitos para evaluar

muchas de las alteraciones que se producen a nivel celular y molecular durante el proceso de isquemia/reperfusión, una vez inducido el daño celular se puede evaluar la influencia de diferentes agentes farmacológicos.

En células endoteliales de hígado humano se ha valorado la eficacia de distintas soluciones de preservación en el trasplante de órganos torácicos, así se ha observado que es más beneficioso que el medio contenga una concentración alta de ATP después de la isquemia y reperfusión<sup>38</sup>.

Exponiendo a hepatocitos humanos normales de la línea HL-7702 a hipoxia durante 5 horas y posterior reoxigenación, se observa un importante incremento de la expresión del receptor de apoptosis<sup>39</sup>.

Wang y cols.<sup>40</sup> utilizaron células endoteliales de pulmón de ratón de la línea MLCE a las que indujeron hipoxia administrando 95% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> durante 24 horas. Para la fase de reoxigenación administraron 95% de aire y 5% de CO<sub>2</sub> durante varios intervalos. Cuando las células eran transfectadas con un vector adenoviral conteniendo un inhibidor de caspasa 8 denominado FLIP se observó una importante reducción de la apoptosis protege tanto por vía intrínseca (dependiente de la mitocondria) como por vía extrínseca (independiente de la mitocondria).

### Terapia antioxidante en shock hemorrágico

Los radicales libres son una causa importante del daño inducido por shock hemorrágico y posterior reperfusión. Dado el rol que los radicales libres juegan en el daño inducido a los diversos órganos y tejidos parece interesante la utilización de sustancias antioxidantes. Un gran número de agentes antioxidantes ha sido estudiado durante la última década. Entre los antioxidantes más eficaces en el tratamiento del daño inducido durante el shock hemorrágico y la posterior reperfusión se pueden diferenciar antioxidantes extracelulares, de membrana e intracelulares.

El  $\alpha$ -tocoferol, un potente inhibidor de la peroxidación lipídica, es capaz de actuar inactivando directamente radicales libres, incrementando la concentración de glutatión reducido (GSH, el principal antioxidante endógeno no enzimático) e incluso presenta otras propiedades no relacionadas con su actividad antioxidante, como su capacidad para inhibir a la proteína quinasa C<sup>41-44</sup>. En modelos animales de I/R se ha observado una reducción importante en la concentración hepática de  $\alpha$ -tocoferol, sobre todo durante la fase de reperfusión<sup>45</sup>. La administración de dosis suprafisiológicas de  $\alpha$ -tocoferol (30-300 mg/kg peso corporal) fue capaz de incrementar los niveles de ATP, reducir la peroxidación lipídica y la oxidación del glutatión<sup>46</sup>. Otras sustancias similares, como el Trolox C, un análogo hidrofílico del  $\alpha$ -tocoferol, han resultado también beneficiosas en modelos experimentales de shock hemorrágico<sup>47</sup>. Finalmente, la combinación de  $\alpha$ -tocoferol y pentoxifilina, un fármaco

usado en el tratamiento de la enfermedad vascular periférica, es capaz de reducir el daño por I/R y aumentar la supervivencia<sup>48</sup>.

Se han realizado estudios con ácido ascórbico, pero los resultados han sido dispares. Así, la utilización de dosis bajas de dicho ácido (< 100 mg/kg peso corporal) parecen tener un efecto protector en el hígado sometido a I/R, mientras que dosis bastante más altas (1 g/kg peso corporal) agravan el daño. Es sobradamente conocido que muchos antioxidantes pueden actuar como pro-oxidantes a dosis muy elevadas o estar relacionados con mecanismos dañinos para el organismo, así altas concentraciones de ácido ascórbico pueden incrementar la reducción del hierro férrico hacia su forma ferrosa incrementando el daño en diversos tejidos como el hígado<sup>49</sup>.

La administración, previa a reperfusión, de una infusión compuesta por un complejo vitamínico conteniendo 10 mg de  $\alpha$ -tocoferol y 1 g de ácido ascórbico reduce la peroxidación lipídica, el tiempo de protrombina y la concentración de aminotransferasa en pacientes que van a ser sometidos a reperfusión<sup>50</sup>.

El pretratamiento con coenzima Q o sus análogos parece inhibir la peroxidación lipídica, reducir la generación mitocondrial de radicales libres, prevenir la pérdida post-isquémica de  $\alpha$ -tocoferol y glutatión reducido o incluso atenuar el daño mediado por neutrófilos<sup>51,52</sup>.

El estudio de la melatonina y de sus acciones antioxidantes va ganando importancia. La administración a ratas de diversas dosis de esta hormona, producida de forma endógena principalmente por la glándula pineal, es capaz de reducir la producción de TNF $\alpha$ , inhibir la expresión de iNOS y preservar la producción de ATP a nivel celular<sup>53</sup>. Además, en estudios ya realizados en humanos, se ha observado que la melatonina incrementa la apoptosis de los neutrófilos activados por la I/R<sup>54</sup>.

Es interesante también indicar que la administración de antioxidantes de origen vegetal, como la quercitina, la cianidina, la catequina o de extractos que los contienen (como extractos de té verde o de *Magnifera indica*) se ha relacionado con reducción de la peroxidación lipídica y del daño a órganos y tejidos<sup>55</sup>.

Como ya se ha indicado previamente, el GSH es el principal antioxidante no enzimático del organismo, pero además sirve de sustrato para la enzima glutatión peroxidasa (que se encuentra tanto en el citosol como en la mitocondria y que es capaz de eliminar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La administración exógena de GSH puede favorecer el mantenimiento de sus niveles intracelulares adecuados, sin embargo es necesario tener en cuenta la dificultad de su captación por parte de las células debido a su elevado tamaño molecular. Se ha observado que dosis de GSH a partir de 100  $\mu$ mol/h/kg de peso corporal pueden proteger al hígado frente a la I/R<sup>56,57</sup>. Otra posibilidad es la administración de precursores del GSH como el N-acetilcisteína (NAC) cuyo tamaño molecular es menor. Los experimentos realizados con

NAC muestran una mejora en la funcionalidad y microcirculación hepáticas después de shock y posterior reperfusión<sup>58</sup>. También se han realizado estudios con compuestos de naturaleza tiólica similares al GSH como por ejemplo la bucilamina que muestra resultados esperanzadores en el tratamiento del daño por I/R<sup>59</sup>.

Diferentes autores han indicado que la administración exógena de derivados del sistema antioxidante enzimático podría ser de utilidad, así se han obtenido reducciones en la peroxidación lipídica y en la actividad de las transaminasas (tanto ALT como AST) utilizando derivados de la superóxido dismutasa y de catalasa<sup>60-63</sup>.

### *Terapia génica antioxidante*

Con las modernas técnicas de biología molecular se están abriendo nuevos horizontes en el tratamiento del shock hemorrágico. Se han utilizado vectores virales conteniendo los genes que codifican para diversas enzimas antioxidantes. Así, la transfección con diversas isoformas de SOD han mostrado incrementos de la supervivencia cuando se administraba el gen de la SOD citosólica o de la SOD mitocondrial, mientras que la forma extracelular de la SOD no resultaba protectora<sup>64,65</sup>. El efecto debido a la sobre-expresión del gen de la SOD mitocondrial parece relacionado con mecanismo de inactivación de los factores de transcripción AP-1 y NF-kappa B<sup>66</sup>.

### **Aminoácidos en la terapia del shock hemorrágico**

La administración de aminoácidos en modelos de shock hemorrágico y posterior reperfusión presenta diversas ventajas tanto a nivel energético como antioxidante, por todo ello cada vez son más utilizados tanto en la nutrición de pacientes afectados o no por isquemia<sup>67,68</sup>.

El L-triptófano es un aminoácido esencial que presenta diversos efectos positivos, siendo capaz de reducir el daño en la mucosa gástrica, la producción de radicales libres<sup>69</sup> y la translocación bacteriana<sup>70</sup>; al menos en parte, estos efectos pueden estar relacionados con que este aminoácido es uno de los precursores del antioxidante melatonina y además puede ser transformado en serotonina en el estómago favoreciendo la motilidad gastrointestinal y la secreción intestinal<sup>71</sup>.

La utilización de la glutamina permite el mantenimiento de niveles fisiológicos de ATP hepáticos protegiendo al hígado durante el shock hemorrágico<sup>72</sup>, efecto debido a que el aminoácido actúa tanto como sustrato metabólico como precursor de la síntesis de ATP y que se ha relacionado con una notable reducción de la muerte celular por apoptosis<sup>73</sup>. La glutamina administrada en forma de dipéptidos como la alanil-L-glutamina y/o glicil-L-glutamina es capaz de revertir el daño inducido por shock hemorrágico en la mucosa del estómago<sup>74</sup> y favorece el mantenimiento de la inte-

gridad intestinal<sup>75</sup>. Además, el dipéptido alanil-glutamina es capaz de reducir la expresión de los genes de la iNOS, IL-1 $\beta$  y TNF $\alpha$  responsables en gran medida del daño inducido por shock hemorrágico<sup>76</sup>.

La administración del aminoácido no esencial de menor peso molecular, la glicina, parece ser útil para el tratamiento de la hepatitis, el shock endotóxico u otras patologías inflamatorias, y tiene un efecto protector contra el daño multiorgánico causado por shock hemorrágico y la posterior reperfusión, minimizando los cambios histopatológicos y reduciendo la mortalidad<sup>77</sup>. Además, nuestro grupo de investigación ha demostrado que la glicina, cuando es administrada de forma oral antes de la inducción del shock hemorrágico, es capaz de inducir una reducción del estrés oxidativo y menor peroxidación lipídica, efecto seguramente debido a un incremento de la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD citosólica y mitocondrial, catalasa y glutatión peroxidasa), el mantenimiento de la concentración fisiológica de GSH, la inhibición de la expresión de la iNOS y el bloqueo de la activación del factor de transcripción NF-kappa B<sup>32</sup>.

Otros autores han descrito efectos beneficiosos al administrar glicina junto con metilprednisolona, con incrementos en la supervivencia de los animales y reducción del daño orgánico. Dichos efectos parecen relacionados con la reducción en la activación de las células de Kupffer, la menor producción de TNF $\alpha$  y la prevención del incremento de Ca<sup>2+</sup> intracelular<sup>78,79</sup>.

### **Lípidos en la terapia del shock hemorrágico**

Como es bien conocido el shock hemorrágico conduce a un fallo en la barrera intestinal, produciendo la translocación bacteriana y por tanto la sepsis<sup>80</sup>. La endotoxemia producida por las bacterias, induce un incremento en la producción de citoquinas inflamatorias, conduciendo a un mayor daño de la barrera intestinal. Además, la hipotensión debida a la pérdida de sangre empeora todo el cuadro<sup>81</sup>.

A pesar de existir muy pocos estudios utilizando lípidos para el tratamiento del daño inducido por shock hemorrágico, parece que éstos podrían tener un potencial efecto beneficioso. Así, por un lado se ha descrito que la administración de dietas ricas en grasas incrementa la secreción de sales biliares que actúan como inhibidores de las endotoxinas<sup>81,82</sup>. Por otro, las lipoproteínas con alto contenido en triacilglicerol, como los quilomicrones, son capaces de neutralizar a las endotoxinas<sup>83,84</sup>, estando mediado este proceso a través de la proteína de unión a lipopolicasacrido (LBP) y apolipoproteínas<sup>85-87</sup>. Estudios realizados en modelos de shock hemorrágico indican que las VLDL y los quilomicrones son capaces de englobar en su interior a las endotoxinas, lo que favorece la captación de dichas endotoxinas por parte de los hepatocitos, evitando su acción directa sobre las células de Kupffer y por ello induciendo una reducción en la secreción de TNF $\alpha$  y en el mecanismo inflamatorio<sup>88-90</sup>.

## Agradecimientos

Los experimentos realizados por nuestro grupo sobre la fisiopatología y tratamiento del shock hemorrágico han sido subvencionados en parte con la ayuda económica de la empresa Novartis Nutrition AG.

## Referencias

1. Zhong Z, Enomoto N, Connor HD, Moss N, Mason RP, Thurman RG. Glycine improves survival after hemorrhagic shock in the rat. *Shock* 1999; 12: 54-62.
2. Wang P, Ayala A, Dean RE y cols. Adequate crystalloid resuscitation restores but fails to maintain the active hepatocellular function following hemorrhagic shock. *J Trauma* 1991; 31: 601-607.
3. Clemens MG, Bauer M, Gingalewski C, Miescher E, Zhang J. Hepatic intracellular communication in shock and inflammation. *Shock* 1994; 2: 1-9.
4. Gutiérrez G, Reines HD, Wulf-Gutiérrez ME. Clinical Review: hemorrhagic shock. *Crit Care* 2004; 8: 373-381.
5. Committee on Trauma: Advanced Trauma Life Support Manual. Chicago. *American Collage of Surgeons* 1997; 103-112.
6. Shenkar R, Coulson WF, Abraham E. Hemorrhage and resuscitation induce alterations in cytokine expression and the development of acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 10: 290-297.
7. Glantzounis GK, Slacinski HJ, Wenxuan Y, Davidson BR, Feifalina AM. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: a review. *Liver Transpl* 2005; 9: 1031-1047.
8. Yamakawa Y, Takano M, Patel M, Tien N, Takada T, Bulkley GB. Interaction of platelet activating factor, reactive oxygen species generated by xanthine oxidase, and leukocytes in the generation of hepatic injury after shock/resuscitation. *Ann Surg* 2000; 231: 387-398.
9. Blum H, Osbakken MD, Johnson RG, Jr. Sodium flux and bioenergetics in the ischemic rat liver. *Magn Reson Med* 1991; 18: 384-357.
10. Farber JL. The role of calcium in cell death. *Life Sci* 1981; 29: 1289-1295.
11. Guillemin K, Krasnow MA. The hypoxic response: huffing and HIFing. *Cell* 1997; 89: 9-12.
12. Fondevila C, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury-a fresh look. *Exp Mol Pathol* 2003; 74: 86-93.
13. Lentsch AB, Kato A, Yohidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm epatic ischemia reperfusion injury. *Hepatology* 2000; 32: 169-173.
14. Liu TZ, Lee KT, Chern CL, Cheng JT, Stern A, Tsai LY. Free radical triggered hepatic injury of experimental obstructive jaundice of rats involves overproduction of porinflammatory cytokines and enhanced activation of nuclear factor kappab. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31: 383-390.
15. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells) *Eur J Biochem* 1990; 192: 245-261.
16. Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. Kupffer cell activation and endothelial cell damage after storage of rat livers: effects of reperfusion. *Hepatology* 1991; 13: 83-95.
17. Jaeschke H. Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000; 15: 718-724.
18. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365-376.
19. Granger DN, Kubes P: The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc Biol* 1994; 55: 662-675.
20. Rauen U, Polzar B, Stephan H, Mannherz HG, De Groot H. Cold-induced apoptosis in cultured hepatocytes and liver endothelial cells: mediation by reactive oxygen species. *FASEB J* 1999; 13: 155-168.
21. Mollen KP, Anand RJ, Tsung A, Prince JM, Levy RM, Billiar TR. Emerging paradigm: toll-like receptor 4-sentinel for the detection of tissue damage. *Shock* 2006; 26: 430-437.
22. Rose S, Pizanis A, Silomon M. Altered hepatocellular Ca<sup>2+</sup> regulation during hemorrhagic shock and resuscitation. *Hepatology* 1997; 25: 379-384.
23. Cheung JY, Bonventre JV, Malis CD, Leaf A. Calcium and ischemic injury. *N Engl J Med* 1986; 314 (26): 1670-1676.
24. Trump BF, Berezesky IK. Calcium-mediated cell injury and cell death. *FASEB J* 1995; 9: 219-228.
25. Colletti LM, Kunkel SL, Walz A y cols. The role of cytokine networks in the local liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rat. *Hepatology* 1996; 23: 506-514.
26. Rose S, Sayeed. Superoxide radical scavenging prevents cellular calcium dysregulation during intraabdominal sepsis. 1: *Shock* 1997; 7: 263-268.
27. Burdette, WJ. Oxygen consumption of cardiac muscle during shock. *Am J Physiol* 1952; 168: 575-583.
28. Schwartz TB. Proteolytic activity and protein metabolism of rat diaphragm in hemorrhagic shock. *Proc Soc Exptl Bio Med* 1953. 83; 362-367.
29. Strawitz JG, Hift F, Temple RL, Ehrhardt A, Rozansky N. Irreversible hemorrhagic shock in rats: method and critical bleeding volume. *Am J Physiol* 1961; 200: 257-260.
30. Steinman R Denstedt OF. Experimental production of hemorrhagic shock in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1969; 47: 305-310.
31. Wang G, Zhao M, Wang EH: Effects of glycine and methylprednisolone on hemorrhagic shock in rats. *Chin Med J* 2004; 117: 1334-1341.
32. Mauriz JL, Matilla B, Culebras JM, Gonzalez P, Gonzalez-Gallego J. Dietary glycine inhibits activation of nuclear factor kappa B and prevents liver injury in hemorrhagic shock in the rat. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 1236-1244.
33. Mauriz JL, González P, Jorquera F, Olcoz JL, González-Gallego J. Caspase inhibition does not protect against liver damage in hemorrhagic shock. *Shock* 2003; 19: 33-37.
34. Rothe CF. Heart failure and fluid loss in hemorrhagic shock. *Fed Proc.* 1970; 29: 1854-1860.
35. Epstein CJ, Avraham KB, Lovett M y cols. Transgenic mice with increased Cu/Zn-superoxide dismutase activity: animal model of dosage effects in Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci SA* 1987; 84: 8044-8048.
36. Duranski MR, Elrod JW, Calvert JW, Bryan NS, Feelisch M, Lefer DJ. Genetic overexpression of eNOS attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 291: 2980-2986.
37. Selzner M, Rudiger HA, Selzner N, Thomas DW, Sindram D, Clavien PA. Transgenic mice overexpressing human Bcl-2 are resistant to hepatic ischemia and reperfusion. *J Hepatol* 2002; 36: 218-225.
38. Janssen H, Janssen PH, Broelsch CE. UW is superior to Celsior and HTK in the protection of human liver endothelial cells against preservation injury. *Liver Transpl* 2004; 10: 1514-1523.
39. Cao L, Li Y, Cheng F, Li S, Long D. Hypoxia/reoxygenation up-regulated the expression of death receptor 5 and enhanced apoptosis in human hepatocyte line. 1: *Transplant Proc* 2006; 38: 2207-2209.
40. Wang X, Wang Y, Zhang J, Kim HP, Ryter SW, Choi AM. FLIP protects against hypoxia/reoxygenation-induced endothelial cell apoptosis by inhibiting Bax activation. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 4742-4751.
41. Brigelius-Flohe R, Kelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg JM, Azzi A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 703-716.
42. Calfee-Mason KG, Spear BT, Glauert HP. Vitamin E inhibits hepatic NF-kappaB activation in rats administered the hepatic tumor promoter, phenobarbital. *J Nutr* 2002; 132: 3178-3185.

43. Masaki H, Okano Y, Ochiai Y, Obayashi K, Akamatsu H, Sakurai H. alpha-tocopherol increases the intracellular glutathione level in HaCaT keratinocytes. *Free Radic Res* 2002; 36: 705-709.
44. Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. The 80<sup>th</sup> anniversary of vitamin E: Beyond its antioxidant properties. *Biol Chem* 2002; 383: 457-465.
45. Marubayashi S, Dohi K, Yamada K, Kawasaki T. 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. *Biochim Biophys Acta* 1984; 797: 1-9.
46. Giakoustidis D, Papageorgiou G, Iliadis S y cols. Intramuscular administration of very high dose of alpha-tocopherol protects liver from severe ischemia/reperfusion injury. *World J Surg* 2002; 26: 872-877.
47. Eum HA, Lee SH, Lee SM. Trolox C ameliorates hepatic drug metabolizing dysfunction after ischemia/reperfusion. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 940-945.
48. Vardareli E, Saricam T, Koken T, Degirmenci I, Aral E, Erenoglu E. The effect of alpha-tocopherol and pentoxifylline on ischemia-reperfusion induced liver injury in rats. *Hepatology* 1998; 45: 1505-1508.
49. Seo MY, Lee SM. Protective effect of low dose of ascorbic acid on hepatobiliary function in hepatic ischemia/reperfusion in rats. *J Hepatol* 2002; 36: 72-77.
50. Cerwenka H, Khoschorur G, Bacher H y cols. Normothermic liver ischemia and antioxidant treatment during hepatic resections. *Free Radic Res* 1999; 30: 463-469.
51. Genova ML, Bonacorsi E, D'Aurelio M y cols. Protective effect of exogenous coenzyme Q in rats subjected to partial hepatic ischemia and reperfusion. *Biofactors* 1999; 9: 345-349.
52. Schutz E, Wieland E, Hensel A y cols. Suppression of leukocyte-enhanced cold ischemia/reperfusion injury of liver endothelium with the benzoquinone antioxidant idebenone. *Clin Biochem* 1997; 30: 619-624.
53. Rodríguez-Reynoso S, Leal C, Portilla E, Olivares N, Muniz J. Effect of exogenous melatonin on hepatic energetic status during ischemia/reperfusion: possible role of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide. *J Surg Res* 2001; 100: 141-149.
54. Chen JC, Ng CJ, Chiu TF, Chen HM. Altered neutrophil apoptosis activity is reversed by melatonin in liver ischemia-reperfusion. *J Pineal Res* 2003; 34: 260-264.
55. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Flavonoides: propiedades y acción antioxidante. *Nutr Hosp* 2002; 17: 271-278.
56. Schauer RJ, Kalmuk S, Gerbes AL y cols. Intravenous administration of glutathione protects parenchymal and non-parenchymal liver cells against reperfusion injury following rat liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 864-870.
57. Schauer RJ, Gerbes AL, Vonier D y cols. Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after prolonged warm ischemia. *Ann Surg* 2004; 239: 220-231.
58. Boman G, Backer U, Larsson S, Melander B, Wahlander L. Oral acetylcysteine reduces exacerbation rate in chronic bronchitis: report of a trial organized by the Swedish Society for Pulmonary Diseases. *Eur J Respir Dis* 1983; 64: 405-415.
59. Amersi F, Nelson SK, Shen XD y cols. Bucillamine, a thiol antioxidant, prevents transplantation-associated reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 8915-8920.
60. Nguyen WD, Kim DH, Alam HB, Provido HS, Kirkpatrick JR. Polyethylene glycol-superoxide dismutase inhibits lipid peroxidation in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Crit Care* 1999; 3: 127-130. Links
61. Nordstrom G, Saljo A, Hasselgren PO. Studies on the possible role of oxygen-derived free radicals for impairment of protein and energy metabolism in liver ischemia. *Circ Shock* 1988; 26: 115-126.
62. Tanaka J, Malchesky PS, Omokawa S y cols. Effects of prostaglandin I<sub>2</sub>, superoxide dismutase, and catalase on ischemia-reperfusion injury in liver transplantation. *ASAIO Trans* 1990; 36: M600-M603.
63. Yabe Y, Koyama Y, Nishikawa M, Takakura Y, Hashida M. Hepatocyte-specific distribution of catalase and its inhibitory effect on hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Free Radic Res* 1999; 30: 265-274.
64. Lehmann TG, Wheeler MD, Schoonhoven R, Bunzendahl H, Samulski RJ, Thurman RG. Delivery of Cu/Zn-superoxide dismutase genes with a viral vector minimizes liver injury and improves survival after liver transplantation in the rat. *Transplantation* 2000; 69: 1051-1057.
65. Lehmann TG, Wheeler MD, Froh M y cols. Effects of three superoxide dismutase genes delivered with an adenovirus on graft function after transplantation of fatty livers in the rat. *Transplantation* 2003; 76: 28-37.
66. Zwacka RM, Zhou W, Zhang Y y cols. Redox gene therapy for ischemia/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF-kappaB activation. *Nat Med* 1998; 4: 698-704.
67. Pérez de la Cruz AJ, Abilés J, Pérez Abud R. Perspectives in the design and development of new products for enteral nutrition. *Nutr Hosp* 2006; 21 (Supl. 2): 98-108.
68. Grau Carmona T, Bonet Saris A, Fernández Ortega F. Artificial nutrition in intestinal failure: short bowel syndrome. Inflammatory Bowel Disease. *Nutr Hosp* 2005; 20 (Supl. 2): 31-33.
69. Kanth VR, Reddy PU, Raju TN. Behavioral, morphological and physiological shift in the rats administered with tryptophan deficient regimen. *Nutr Hosp* 2006; 21: 596-603.
70. Bulbulla N, Pektas B, Ozdarendeli A, Dogru O, Aygen E, Akpolat N. The effect of L-tryptophan on hemorrhagic shock induced bacterial translocation. *J Surg Res* 2005; 123: 194-199.
71. Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowski T. Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and in healing of chronic gastric ulcers. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57 (Supl. 5): 51-66.
72. Dhar A, Kujath S, Van Way CW. Glutamine administration during total parenteral nutrition protects liver adenosine nucleotides during and after subsequent hemorrhagic shock. *J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27: 246-251.
73. Van Way CW, Dhar A, Morrison D. Hemorrhagic shock: a new look at an old problem. *Mo Med* 2003; 100: 518-523.
74. Schroder J, Kahlke V, Fandrich F y cols. Glutamine dipeptides-supplemented parenteral nutrition reverses gut mucosal structure and interleukin-6 release of rat intestinal mononuclear cells after hemorrhagic shock. *Shock* 1998; 10: 26-31.
75. Fontana Gallego L, Sáez Lara MJ, Santisteban Bailón R, Gil Hernández A. Nitrogenous compounds of interest in clinical nutrition. *Nutr Hosp* 2006; 21 (Supl. 2): 14-27.
76. Yang R, Tan X, Thomas AM y cols. Alanine-Glutamine Dipeptide (AGD) Inhibits Expression of Inflammation-Related Genes in Hemorrhagic Shock. *J Parenter Enteral Nutr* 2007; 31: 32-36.
77. Matilla B, Mauriz JL, Culebras JM, González-Gallego J, González P. Glycine: a cell-protecting anti-oxidant nutrient. *Nutr Hosp* 2002; 17: 2-9.
78. Wang G, Wang EH. The effect of glycine on survival after hemorrhagic shock in the rats. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2004; 42: 296-301.
79. Wang G, Wang Y, Guan FL, Ren GC, Wang YZ. The effect of combination of glycine and methylprednisolone on Kupffer cells of liver after hemorrhagic shock in rats. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2006; 44: 349-352.
80. Bemelmans MH, Greve JW, Gouma DJ, Buurman WA. Increased concentrations of tumour necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptors in biliary obstruction in mice; soluble TNF receptors as prognostic factors for mortality. *Gut* 1996; 38: 447-453.
81. Jiang J, Bahrami S, Leichtfried G y cols. Kinetics of endotoxin and tumor necrosis factor appearance in portal and systemic circulation after hemorrhagic shock in rats. *Ann Surg* 1995; 221: 100-106.
82. Sheen-Chen SM, Chen HS, Ho HT, Chen WJ, Sheen CC, Eng HL. Effect of bile acid replacement on endotoxin-induced tumor necrosis factor-alpha production in obstructive jaundice. *World J Surg* 2002; 26: 448-450.



83. Bertok L. Effect of bile acids on endotoxin *in vitro* and *in vivo* (physico-chemical defense) Bile deficiency and endotoxin translocation. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 851: 408-410.
84. Vreugdenhil AC, Rousseau CH, Hartung T, Greve JW, Van't Veer C, Buurman WA. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein mediates LPS detoxification by chylomicrons. *J Immunol* 2003; 170: 1399-1405.
85. Harris HW, Grunfeld C, Feingold KR y cols. Chylomicrons alter the fate of endotoxin, decreasing tumor necrosis factor release and preventing death. *J Clin Invest* 1993; 91: 1028-1034.
86. Rauchhaus M, Coats AJ, Anker SD. The endotoxin-lipoprotein hypothesis. *Lancet* 2000; 356: 930-933.
87. Vreugdenhil AC, Snoek AM, Van't Veer C y cols. LPS-binding protein circulates in association with apoB-containing lipoproteins and enhances endotoxin-LDL/VLDL interaction. *J Clin Invest* 2001; 107: 225-234.
88. Luyer MD, Buurman WA, Hadfoune M y cols. Pretreatment with high fat enteral nutrition reduces endotoxin and tumor necrosis factor alpha and preserves gut barrier function early after hemorrhagic shock. *Shock* 2004; 21: 65-71.
89. Luyer MD, Buurman WA, Hadfoune M, Jacobs JA, Dejong CH, Greve JW. High-fat enteral nutrition reduces endotoxin, tumor necrosis factor-alpha and gut permeability in bile duct-ligated rats subjected to hemorrhagic shock. *J Hepatol* 2004, 41: 377-383.
90. Luyer MD, Jacobs JA, Vreugdenhil AC y cols. Enteral administration of high-fat nutrition before and directly after hemorrhagic shock reduces endotoxemia and bacterial translocation. *Ann Surg* 2004; 239: 257-264.